



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

## СОДЕРЖАНИЕ

## Научный отдел

## Химия

- Зинина Е. А., Селезнев М. В., Сорокин В. В.** Синтез эфиров замещенных ((1-адамантилэтил)амино)циклогексен(ди)карбоновых кислот 3
- Пожаров М. В., Захарова Т. В.** Влияние функциональных групп на электронодонорные свойства некоторых ароматических органических кислот 5
- Демахин А. Г., Акчурин С. В., Муштакова С. П.** Получение концентратов иода и брома из природных минеральных источников 9
- Ильин К. К., Севрюгин А. В., Черкасов Д. Г.** Фазовые равновесия и критические явления в двойной системе вода–н-бутиловый спирт 12
- Элькин М. Д., Панкратов А. Н., Джалмухамбетова Е. А., Алыкова О. М.** Структурно-динамические модели и спектроскопическая идентификация димеров урацила и азаурацилов 15
- Сорокина О. Н., Сумина Е. Г., Петракова А. В., Углова В. З.** Применение циклодекстринов в тонкослойной хроматографии некоторых антиоксидантов полифенольной природы 23
- Волкова Н. М., Амелин В. Г., Третьяков А. В., Абраменкова О. И., Тимофеев А. А.** Пробоподготовка CuEChERS при одновременном определении остаточных количеств антибиотиков хинолонового ряда и хлорамфеникола в пищевых продуктах методом ВЭЖХ-ДМД 30
- Голец А. В., Скиданов Е. В., Казаринов И. А.** Определение бактериального заражения воды потенциометрическим методом 35

## Биология

- Давиденко О. Н., Невский С. А.** Материалы к третьему изданию Красной книги Саратовской области 40
- Малышина М. С., Петерсон А. М., Балтаева С. Ю.** Выявление факторов фитопатогенности у бактерий-ассоциантов некоторых видов тли в Саратовской области 49
- Ахмадуллин Р. Ш., Зайцев Г. А.** Особенности транспирации листьев ивы белой в условиях нефтехимического загрязнения 53
- Макарихина С. С., Гулий О. И., Соколов О. И., Буров А. М., Павлий С. А., Сивко О. Н., Володин Д. Ю., Игнатов О. В.** Выделение и характеристика бактериофага *Azospirillum lipoferum* штамма SP 59B 56
- Зинченко Е. М., Лыкова Е. Ю.** Влияние сенсорной асимметрии на мыслительные способности студентов разного профиля обучения 61
- Григорович М. А., Кудрин Б. И., Плотникова О. М., Евдокимов А. Н., Сосновских Е. Н.** Острая токсичность некоторых органических солей моноэтаноламина 66
- Лаврентьев М. В., Архипова Е. А., Болдырев В. А.** Род *Hedysarum* L. в гербарии Саратовского государственного университета (SARAT, SARP) 70
- Жигачева О. И.** Консортивные связи водяного ореха (*Tapa natans* L. s. l., Trapaеae) в Волжском бассейне 74
- Суркина А. К., Коннова С. А., Федоненко Ю. П., Игнатов В. В.** Гликополимеры бактерий рода *Azospirillum* как перспективные антагонисты классических эндотоксинов 78
- Угольников Е. В., Березуцкий М. А., Кашин А. С.** Видовой состав рода *Salix* L. на антропогенных местообитаниях Саратовской области 96

## Экология

- Демина И. В., Ермохин М. В., Полуконова Н. В.** Фенология вылета и соотношение полов в популяциях гетеротопных насекомых пойменных озер долины реки Волги 88
- Самтанова Д. Э., Сангаджиева Л. Х.** Влияние минерализованных пластовых вод на загрязнение почвенного покрова 96
- Олискевич В. В., Талаловская Н. М., Третьякова С. Э., Барышникова Е. А., Ксенофонтова О. Ю., Гребенщикова В. А., Андрихина И. Ю., Басова Е. В., Правдивцева М. И., Живайкина Ю. А., Иванова Е. В.** Оптимизация технологии биоремедиации сельскохозяйственных земель, загрязненных гербицидом «Гезагард» 101
- Коробко В. В., Волков Д. П.** Устойчивость некоторых сортов зернового сорго к разнокачественному засолению 107

## Сведения об авторах

РЕДАКЦИОННАЯ  
КОЛЛЕГИЯ

- Главный редактор**  
Коссович Леонид Юрьевич
- Заместитель главного редактора**  
Усанов Дмитрий Александрович
- Ответственный секретарь**  
Клоков Василий Тихонович
- Члены редакционной коллегии**  
Аврус Анатолий Ильич  
Аксеновская Людмила Николаевна  
Аникин Валерий Михайлович  
Балаш Ольга Сергеевна  
Бучко Ирина Юрьевна  
Вениг Сергей Борисович  
Волкова Елена Николаевна  
Голуб Юрий Григорьевич  
Захаров Андрей Михайлович  
Ивченков Сергей Григорьевич  
Комкова Галина Николаевна  
Лебедева Ирина Владимировна  
Левин Юрий Иванович  
Макаров Владимир Зиновьевич  
Монахов Сергей Юрьевич  
Орлов Михаил Олегович  
Прозоров Валерий Владимирович  
Федотова Ольга Васильевна  
Федорова Антонина Гавриловна  
Черевичко Татьяна Викторовна  
Шатилова Алла Валерьевна  
Шляхтин Геннадий Викторович

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ  
СЕРИИ

- Главный редактор**  
Шляхтин Геннадий Викторович
- Заместитель главного редактора**  
Федотова Ольга Васильевна
- Ответственный секретарь**  
Глинская Елена Владимировна
- Члены редакционной коллегии**  
Аникин Василий Викторович  
Болдырев Владимир Александрович  
Грибов Лев Александрович  
Кашин Александр Степанович  
Коннова Светлана Анатольевна  
Кузьмина Раиса Ивановна  
Муштакова Светлана Петровна  
Розенберг Геннадий Самуилович  
Чернова Римма Кузьминична  
Шиповская Анна Борисовна

**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



## ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСЕЙ

Журнал принимает к публикации обще-теоретические, методические, дискуссионные, критические статьи, результаты исследований по всем научным направлениям.

К статье прилагаются сопроводительное письмо, внешняя рецензия и сведения об авторах: фамилии, имена и отчества (полностью), рабочий адрес, контактные телефоны, e-mail.

1. Рукописи объемом не более 1 печ. листа, не более 8 рисунков принимаются в редакцию в бумажном и электронном вариантах в 1 экз.:

а) бумажный вариант должен быть напечатан через один интервал шрифтом 14 пунктов. Рисунки выполняются на отдельных листах. Под рисунком указывается его номер, а внизу страницы – Ф.И.О. автора и название статьи. Подрисуночные подписи печатаются на отдельном листе и должны быть самодостаточными;

б) электронный вариант в формате Word пересылается по электронной почте. Рисунки предоставляются в виде отдельных файлов в формате TIFF, EPS, CDR или JPEG.

2. Требования к оформлению текста.

Последовательность предоставления материала: индекс УДК; название статьи, инициалы и фамилии авторов, аннотация и ключевые слова (на русском и английском языках); текст статьи; библиографический список; таблицы; рисунки; подписи к рисункам.

В библиографическом списке нумерация источников должна соответствовать очередности ссылок на них в тексте.

### Зав. редакцией

Бучко Ирина Юрьевна

### Редактор

Митенёва Елена Анатольевна

### Художник

Соколов Дмитрий Валерьевич

### Верстка

Ковалёва 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: ElenaVG-2007@yandex.ru

Подписано в печать 10.06.2013.

Формат 60x84 1/8.

Усл. печ. л. 13,95(15).

Тираж 500 экз. Заказ 24.

Отпечатано в типографии

Издательства Саратовского университета

© Саратовский государственный университет, 2013

## CONTENTS

### Scientific Part

#### Chemistry

- Zinina E. A., Seleznev M. V., Sorokin V. V.** Synthesis of Esters of Substituted ((1-Adamantylethyl)amino)cyclohexene(di)carboxylic Acid 3
- Pozharov M. V., Zaharova T. V.** The Effect of Substituent Groups on Electron-donor Properties of Several Aromatic Organic Acids 5
- Demakhin A. G., Akchurin S. V., Mushtakova S. P.** Receiving of the Concentrate of the Iodine and Bromine from Different Mineral Sources 9
- Il'in K. K., Sevryugin A. V., Cherkasov D. G.** Phase Equilibria and Critical Phenomena in the Water–*n*-Butyl Alcohol Binary System 12
- Elkin M. D., Pankratov A. N., Dzhalmukhambetova E. A., Alykova O. M.** Structural Dynamic Models and Spectroscopic Identification of the Dimers of Uracil and Azauracils 15
- Sorokina O. N., Sumina E. G., Petrakova A. V., Uglanova V. Z.** Application of Cyclodextrins in Thin-Layer Chromatography for Some Antioxidants of Polyphenolic Nature 23
- Volkova N. M., Amelin V. G., Tretyakov A. V., Abramenkova O. I., Timofeev A. A.** QuEChERS Sample Preparation in Simultaneous Determination of Residual Amounts of Antibiotics Quinolone Series and Chloramphenicol in Food by HPLC-DAD 30
- Golets A. V., Skidanov E. V., Kazarinov I. A.** Potentiometric Analysis of Bacterial Water Contamination 35

#### Biology

- Davidenko O. N., Nevskiy S. A.** Materials to the Third Edition of the Red Book of the Saratov Region 40
- Malyshina M. S., Peterson A. M., Baltaeva S. Yu.** Revealing of Factors Phytopatogenic in Bacteria-Associants Some Species of Aphis in Saratov Region 49
- Ahmadullin R. Sh., Zaitsev G. A.** Features of the White Willow Leaves Transpirations in the Conditions of Petrochemical Pollution 53
- Makarikhina S. S., Gulyi O. I., Sokolov O. I., Burov A. M., Pavliy S. A., Sivko O. N., Volodin D. Yu., Ignatov O. V.** Isolation and Characterization of Bacteriophages from *Azospirillum Lipoterum* Strain SP 59B 56
- Zinchenko E. M., Lykova E. Yu.** Effect of Sensory Asymmetry on Cognitive Abilities of Students Different Profiles of Training 61
- Grigorovich M. A., Kudrin B. I., Plotnikova O. M., Evdokimov A. N., Sosnovskikh E. N.** Acute Toxicity of Some Monoethanolamine Organic Salts 66
- Lavrentyev M. V., Arkhipova E. A., Boldyrev V. A.** Genus *Hedysarum* L. in Herbarium of Saratov State University (SARAT, SARP) 70
- Zhigacheva O. I.** In Total about Konsortivny Communications of a Water Nut (*Trapa Natans* L. s. l. Trapaceae) in Inundated Reservoirs of the Volzhsk Pool 74
- Surkina A. K., Konnova S. A., Fedonenko Y. P., Ignatov V. V.** Glycopolymers from Bacteria of the Genus *Azospirillum* as Promising Antagonists of Classic Endotoxins 78
- Ugolnikova E. V., Berezutsky M. A., Kashin A. S.** Species Composition of *Salix* L. on Anthropogenic Habitats of Saratov Region 85

#### Ecology

- Demina I. V., Yermokhin M. V., Polukonova N. V.** The Phenology of Emergence and the Sex Ratio of Heterotopic Insect Populations from Flood Lakes of the Volga River Valley 88
- Samtanova D. E., Sangadzhieva L. H.** Influence of the Mineralized Stratal Waters on Contamination of Soil Cover 96
- Oliskevich V. V., Talalovskaya N. M., Tretyakova S. E., Baryshnikova E. A., Ksenofontova O. U., Grebenshchikova V. A., Andryuhina I. Y., Basova E. V., Pravdivzheva M. I., Zhivaikina U. A., Ivanova E. V.** Optimization Technology Bioremediation Agricultural Land of Contaminated of Herbicide «Gezagard» 101
- Korobko V. V., Volkov D. P.** The Tolerance of Seedlings of Some Varieties of Grain Sorghum in Various Types of Salinity 107

### Information about the Authors

112



## ХИМИЯ

УДК 547.594.3; 547.333

### СИНТЕЗ ЭФИРОВ ЗАМЕЩЁННЫХ ((1-АДАМАНТИЛЭТИЛ)АМИНО)ЦИКЛОГЕКСЕН(ДИ) КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Е. А. Зинина, М. В. Селезнев, В. В. Сорокин

Институт химии Саратовского государственного университета  
E-mail: evgeniyaaz@rambler.ru

Аминирование диэтил 2-арил-4-гидрокси-4-метил-6-оксоциклогексан-1,3-дикарбоксилатов (1а,б) и этил 3-ацетил-4-гидрокси-4-метил-6-оксо-2-фенилциклогексанкарбоксилата (1в) под действием рацемического 1-(1-адамантил)этиламина (2) протекает по карбонильной группе алицикла с образованием диэтил 2-арил-6-гидрокси-6-метил-4-((1-адамантилэтил)амино)циклогекс-3-ен-1,3-дикарбоксилатов (3а,б) либо этил 5-ацетил-6-фенил-4-гидрокси-4-метил-2-((1-адамантилэтил)амино)циклогекс-1-енкарбоксилата (3в) соответственно в виде смеси диастереомеров. Состав и строение полученных продуктов подтвержден с помощью элементного анализа, ИК и ЯМР<sup>1</sup>H спектроскопией.

**Ключевые слова:** енамины, адамантильный радикал, циклогексенкарбоксилаты, циклогексендикарбоксилаты.

#### Synthesis of Esters of Substituted ((1-adamantylethyl)amino)cyclohexene(di)carboxylic Acid

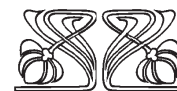
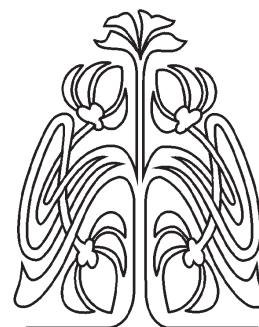
Е. А. Зинина, М. В. Селезнев, В. В. Сорокин

The amination of diethyl 2-aryl-4-hydroxy-4-methyl-6-oxocyclohexan-1,3-dicarboxylates and ethyl 3-acetyl-4-hydroxy-4-methyl-6-oxo-2-phenylcyclohexanecarboxylate under the influence of racemical 1-(1-adamantyl) ethylamine occurs at the the alicycle's carbonyl group to form diethyl 2-aryl-6-hydroxy-6-methyl-4-((1-adamantylethyl)amino)cyclohex-3-en-1,3-dicarboxylates or ethyl 5-acetyl-6-phenyl-4-hydroxy-4-methyl-2-((1-adamantylethyl)amino)cyclohex-1-en-carboxylate respectively, as a mixture of diastereomers. The products composition and structure have been proved by the elemental analysis, IR and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy.

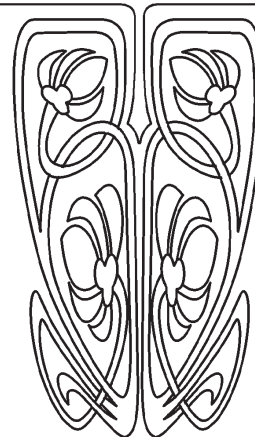
**Key words:** enamines, adamantyl radical, cyclohexencarboxylates, cyclohexencarboxylates.

Известно, что введение адамантильного радикала в органические соединения изменяет и часто усиливает биологическую активность за счёт пространственных факторов, гидрофобности и липофильности, создает благоприятные условия для транспорта органической молекулы через биологические мембраны [1]. С другой стороны, N-ариленаминокетонный фрагмент обуславливает противовоспалительную и анальгетическую активность [2].

Можно ожидать, что введение адамантильного радикала с одновременным построением емаминного фрагмента позволит перейти к новым биологически активным соединениям. Ранее путём ариламинования замещённых циклогексанонов и эфиров циклогексанкарбоновых кислот были синтезированы циклогексенлариламины, содержащие ацетильные либо сложноэфирные группы в алифатическом кольце и изучены некоторые виды их биологической активности [3, 4]. При использовании в качестве аминирующего агента адамантиламина



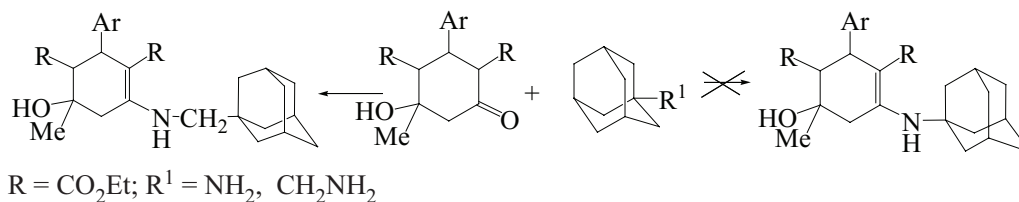
НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





реакция не протекала [5], вероятно из-за стерических затруднений при нуклеофильной атаке,

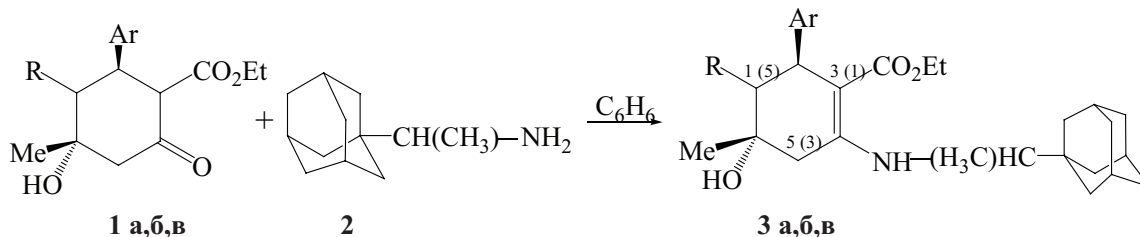
однако аминирование адамантилметиленамином протекало успешно [6].



В продолжение исследований в области адамантиламинирования эфиров циклогексанкарбоновых кислот и с целью получение енаминов с фармакофорными группами нами впервые была проведена реакция аминирования дикарбоксилатов 1а,б и карбоксилата 1в 1-(1-адамантил)этиламино (2), который был выделен в виде рацемической смеси перекристаллизацией из фармпрепарата «Ремантадин». Предполагалось, что отдаление аминогруппы от адамантильного радикала, как и в случае адамантилметиленамина, позволит избежать стерических затруднений, характерных для адамантиламина. Исходные

эферы 1 получены с высокой диастереомерной чистотой, исходя из ацетоуксусного эфира, ацетилацетона и альдегидов по методикам [7, 8].

Аминирование проводилось при 1,5-кратным избытке аминирующего агента при нагревании в среде бензола. Субстраты (1) реагировали региоселективно с участием оксогруппы алицикла с образованием диэтил 2-Аг- 6-гидрокси-6-метил-4-((1-адамантилэтил)амино)циклогекс-3-ен-1,3-дикарбоксилатов (3 а,б) и этил 5-ацетил-6-фенил-4-гидрокси-4-метил-2-((1-адамантилэтил)амино)циклогекс-1-енкарбоксилата (3в) с выходами 51–90%.



Ar = Ph (1а,в, 3а,в), C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-NO<sub>2</sub>-3 (1б, 3б)  
R = CO<sub>2</sub>Et (1а,б, 3а,б), COMe (1в, 3в)

Состав и строение синтезированных соединений подтверждены данными элементного анализа, ИК и ЯМР<sup>1</sup>H спектроскопии.

В ИК-спектрах (ди)карбоксилатов (3) отмечены полосы валентных колебаний вторичной аминогруппы (3255–3253 см<sup>-1</sup>), гидроксильной группы (3524–3510 см<sup>-1</sup>), сопряженной карбонильной функции (1653–1647 см<sup>-1</sup>), несопряженной карбонильной функции (1713–1701).

В ЯМР<sup>1</sup>H-спектре присутствуют сигналы протонов аминогрупп (9.21–9.39 м.д.), сигналы протона H<sup>1(5)</sup>(2.43–2.44 м.д.), H<sup>2(6)</sup>(4.04–4.26 м.д.), метиленового звена (1.25–1.31 м.д.), а также сигналы протонов, характерных для адамантанового каркаса (1.56, 1.60–1.75 и 2.00–2.03 м.д.). Метиленовые протоны алицикла проявляются двумя сигналами H<sup>5a(3a)</sup> (2.29–2.34 м.д., 2.32–2.42 м.д.) и H<sup>5c(3c)</sup> (2.61–2.66 м.д., 2.72–2.77 м.д.), а сигналы протонов NH-CH-CH<sub>3</sub> (3.07–3.12 м.д. и 3.17–3.24)

и CH<sub>3</sub>-CH-Ad (1.06–1.10 м.д. и 1.12–1.15 м.д.) удваиваются, что обусловлено диастереополностью соответствующих протонов.

Таким образом, реакции диэтил 2-Аг-4-гидрокси-4-метил-6-оксоциклогексан-1,3-дикарбоксилатов и этил 3-ацетил-4-гидрокси-4-метил-6-оксо-2-фенилциклогексанкарбоксилата с 1-(1-адамантил)этиламино протекают региоселективно по карбонильной группе алицикла и позволяют получать с хорошими выходами эфиры замещённых ((1-адамантилэтил)амино)циклогексенкарбоновых и ((1-адамантилэтил)амино)циклогексендикарбоновых кислот.

### Диэтил 2-фенил-6-гидрокси-6-метил-4-((1-адамантилэтил)амино)циклогекс-3-ен-1,3-дикарбоксилат (3а)

В круглодонную колбу, снабженную обратным холодильником, насадкой Дина-Старка



помещают 0.72 г (2.1 ммоль) оксоциклогександикарбоксилата (1 а) и 0,56 г (3.2 ммоль) 1-(1-адамантил)этиламина (2) и 15 мл бензола. Смесь кипятят 6 часов, ход реакции контролируют методом ТСХ, охлаждают. Выпавший продукт затирают и промывают в воде. Выход 0.55 г (51%). Желтые кристаллы,  $T_{пл}$  66–76 °С. Найдено, %: С 73.20; Н 8.86; N 2.49.  $C_{31}H_{43}NO_5$ . Вычислено, %: С 73.05; Н 8.50; N 2.75.

#### Диэтил 2-(3-нитрофенил)-6-гидрокси-6-метил-4-((1-адамантилэтил)амино)циклогекс-3-ен-1,3-дикарбоксилат (3б)

Получают аналогично методике (3а) исходя из 0.62г (1.6ммоль) оксоциклогександикарбоксилата (1 б), 0,50 г (2.3 ммоль) ремантадина и 0.09г (2.3 ммоль) NaOH. Выход 0.77 г (90%). Желтые кристаллы,  $T_{пл}$  80–86 °С. Найдено, %: С 67.17; Н 7.91; N 4.76.  $C_{31}H_{42}N_2O_7$ . Вычислено, %: С 67.13; Н 7.63; N 5.05

#### Этил 5-ацетил-6-фенил-4-гидрокси-4-метил-2-((1-адамантилэтил)амино)циклогекс-1-енкарбоксилат (3в)

Получают аналогично методике (3а) исходя из 0.48г (1.5ммоль) этил 3-ацетил-4-гидрокси-4-метил-6-оксо-2-фенилциклогексанкарбоксилата (1 в), 0,49 г (2.3 ммоль) ремантадина и 0.09г (2.3 ммоль) NaOH. Выход 0.64 г (89%). Желтые кристаллы,  $T_{пл}$  69–73 °С. Найдено, %: С 75,43;

Н 8,53; N 2,51.  $C_{30}H_{41}NO_4$ . Вычислено, %: С 75,12; Н 8,62; N 2,92

#### Список литературы

1. Багрий Е. И. Адамантаны : получение, свойства, применение. М. : Наука, 1989. 264 с.
2. Завьялов С. И., Дорофеева О. Ф., Румянцева Е. Е., Завозин А. Г. Синтез N-ариленаминокетонеров // Хим.-фарм. журн. 1995. Т. 29, № 2. С. 58–60.
3. Сорокин В. В., Кривенько А. П. Биологическая активность N,O,S-содержащих гетероорганических соединений. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2002. 201 с.
4. Сорокин В. В., Кривенько А. П., Виноградова Н. А., Плотников О. П. Синтез и антифаговая активность замещенных N-арилциклогексениламинов // Хим.-фарм. журн. 2001. Т. 35, № 9. С. 24–25.
5. Григорьева Э. А., Кривенько А. П., Сорокин В. В. и др. Реакции замещенных циклогексанолонов с алициклическими и жирноароматическими аминами // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2004. Т. 47, вып. 4. С. 108–111.
6. Поплевина Н. В., Григорьева Э. А., Зинина Е. А., Кривенько А. П. Оксоциклогександикарбоксилаты в реакциях с алифатическими и гетероциклическими аминами // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2010. Т. 53, вып. 5. С. 18–21.
7. Finar I. L. The Structure of 1,5-Diketones // J. Chem. Soc. 1961. № 2. P. 674–679.
8. Субботин В. Е., Сорокин В. В., Голиков А. Г., Кривенько А. П. Синтез и строение ацетилзамещенных циклогексанонкарбоксилатов // Журн. орг. химии. 2010. Т. 45, вып. 4. С. 601–603.

УДК 544.183.7

## ВЛИЯНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП НА ЭЛЕКТРОНОДОНОРНЫЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ АРОМАТИЧЕСКИХ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ

М. В. Пожаров, Т. В. Захарова

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

Методами *ab initio* произведен теоретический расчет геометрии и электронной структуры бензолсульфоновой кислоты и ее аминокзамещенных. Оценено влияние положения функциональных групп на электронодонорные свойства кислот.

**Ключевые слова:** *ab initio* расчеты, базис SBKJC-V3PW87, аминокбензолсульфоновые кислоты, электронодонорные свойства.



### The Effect of Substituent Groups on Electron-donor Properties of Several Aromatic Organic Acids

M. V. Pozharov, T. V. Zaharova

Geometry and electron structure of benzenesulphonic and three aminobenzenesulphonic acids were calculated using *ab initio* methods. A correlation between position of functional group and acid's electron donor properties was found.



**Key words:** *ab initio* computation, SBKJC-B3PW87 basis set, aminobenzenesulphonic acids, electron donor properties.

На сегодняшний день редкоземельные элементы (РЗЭ) и их соединения находят широкое применение в различных отраслях науки и техники, в том числе в производстве металлических стекол [1], в качестве добавок к керамическим материалам [2], в качестве катализаторов нитрования толуола [3]. Однако важнейшей областью применения РЗЭ являются люминофоры. В последнее время синтез и изучение люминесцентных свойств органических соединений РЗЭ становится приоритетной задачей [4–7].

Соединения РЗЭ являются идеальным материалом для люминофоров. Это обусловлено тем, что все атомы РЗЭ обладают  $4f$ -орбиталью, электроны которой экранированы лежащей выше по энергии  $6s$ -орбиталью, что позволяет им осуществлять энергетические переходы в пределах  $f$ -орбитали даже при незначительном возбуждении. Однако в результате таких переходов выделяется довольно незначительное количество энергии для поддержания интенсивной и стабильной люминесценции вещества, поскольку  $f-f$  переходы электронов являются запрещенными по четности. Решением данной проблемы является синтез комплекса РЗЭ с электронодонорными лигандами.

В статье [4] отмечается, что в комплексах металлов с органическими лигандами, входящими в состав органической матрицы светоизлучающего устройства, данные переходы оказываются разрешенными в связи с нарушениями симметрии полей лигандов и эффектом вибронного (электронно-колебательного) взаимодействия, что позволяет значительно ослабить правила отбора. В таких системах излучение центрального иона может усиливаться посредством безызлучательного переноса энергии возбуждения от материала органической матрицы к лигандам, а от них к центральному иону.

Примерами подобных лигандов могут выступать как нейтральные органические молекулы, например, 1,10-фенантролин или 2,2'-бипиридил [4,5], так и анионы ароматических кислот [6, 7]. Теоретический анализ электронной структуры подобных молекул может быть применен для априорной оценки возможности их использования в качестве электронодонорных лигандов для комплексов РЗЭ. В данной работе приводится оценка потенциальных электронодонорных свойств некоторых ароматических органических кислот (бензолсульфоновой, 2-аминобензолсульфоновой, 3-аминобензолсульфоновой и 4-аминобензолсульфоновой) на основании данных теоретического расчета их геометрии и электронной структуры.

### Методы исследования

Электронная структура и геометрия кислот были рассчитаны с использованием программного комплекса Gamess-Firefly в *ab initio* базе UHF-SBKJC с DFT-потенциалом B3PW87, который, как показали исследования [8], может быть использован для оптимизации структур и последующего изучения молекул, содержащих атомы редкоземельных элементов. Строение рассчитанных молекул представлено на рисунке.

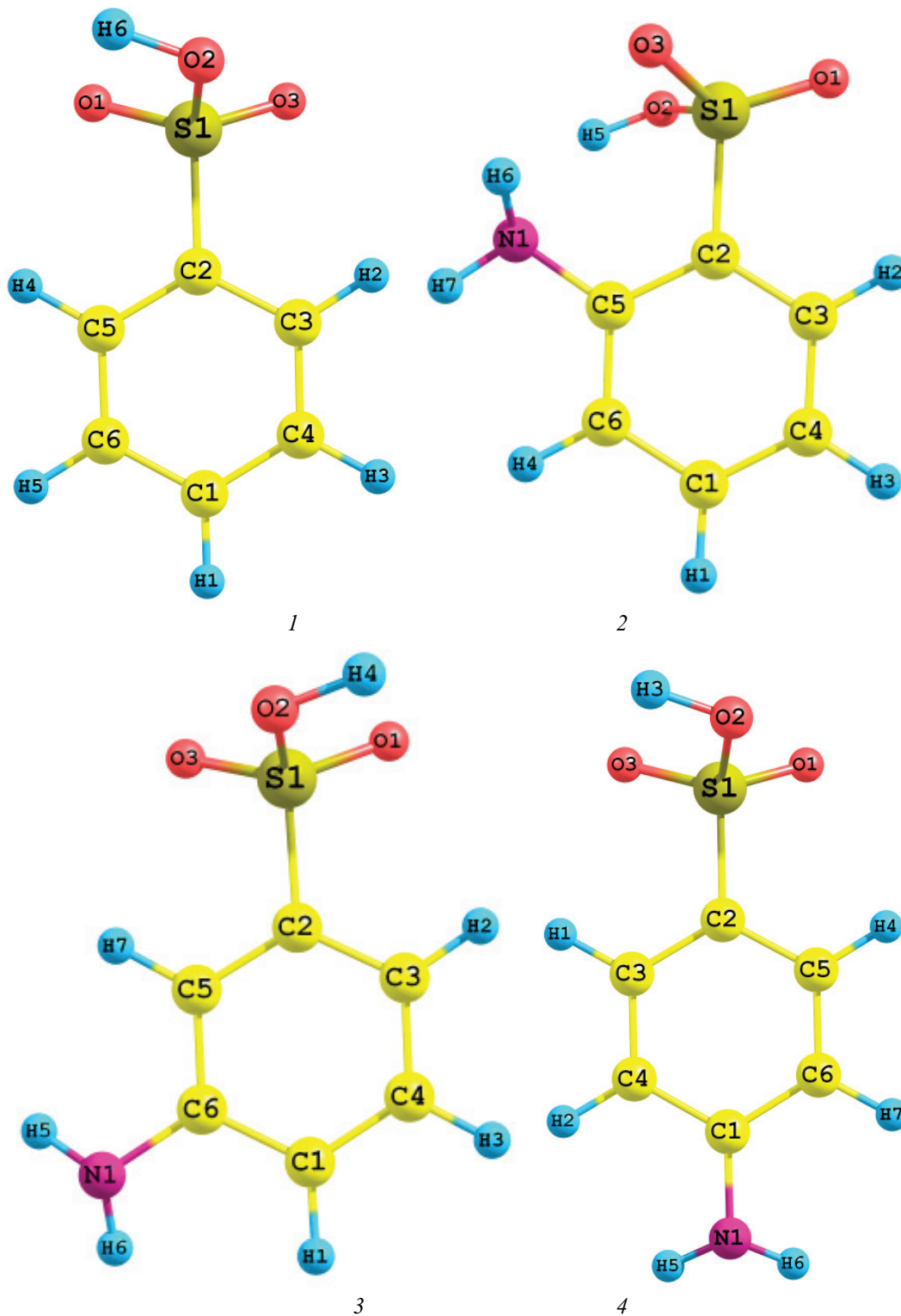
### Результаты и их обсуждение

Все исследуемые молекулы имеют неплоское строение, обусловленное тетраэдрическим строением сульфогруппы с атомом серы в центре тетраэдра (торсионные углы  $\text{H-O}_2\text{-S}_1\text{-C}_2$  равны  $90\text{--}110^\circ$ ), что хорошо согласуется с известными литературными данными [9]. Длины связей при добавлении аминогруппы к молекуле бензолсульфоновой кислоты меняются незначительно (табл. 1). Следует отметить уменьшение длин связей  $\text{C-S}$  в ряду бензолсульфоновая кислота – 2-аминобензолсульфоновая кислота – 3-аминобензолсульфоновая кислота – 4-аминобензолсульфоновая кислота.

Таблица 1

Длины некоторых связей в ароматических кислотах, Å

Кислота	C – S	S = O	S – O	C – N	N – H
Бензолсульфоновая	1,794	1,454 1,464	1,645	–	–
2-аминобензолсульфоновая	1,791	1,453 1,467	1,629	1,421	1,027 1,033
3-аминобензолсульфоновая	1,794	1,455 1,463	1,645	1,403	1,025 1,025
4-аминобензолсульфоновая	1,780	1,455 1,465	1,649	1,396	1,024 1,024



Строение молекул исследуемых кислот (1 – бензолсульфовая, 2 – 2-аминобензолсульфовая; 3 – 3-аминобензолсульфовая; 4 – 4-аминобензолсульфовая)

Как видно из табл. 2, молекула бензолсульфоновой кислоты является полярной (ее дипольный момент 4,965Д), причем относительный отрица-

тельный заряд сосредоточен на атомах кислорода сульфогруппы, а относительный положительный заряд – на атоме серы (см. табл. 2).



Таблица 2

## Относительные заряды на атомах и дипольный момент ароматических кислот

Кислота	q (N)	q (S)	q(O <sub>S</sub> )	μ, Д
Бензолсульфовая	–	0,395	–0,414	4,965
2-аминобензолсульфовая	–0,122	0,342	–0,390	6,552
3-аминобензолсульфовая	–0,058	0,389	–0,413	5,385
4-аминобензолсульфовая	–0,041	0,373	–0,416	6,734

Введение аминогруппы в положение 2 ароматического кольца бензолсульфоновой кислоты приводит к частичному смещению электронной плотности к атому азота, что выражается в уменьшении (по модулю) значения отрицательного заряда на атоме кислорода сульфогруппы и положительного заряда на атоме серы, а также к увеличению полярности молекулы (о чем свидетельствует увеличение величины дипольного момента).

В результате же присоединения аминогруппы в положение 3 ароматического кольца бензолсульфоновой кислоты также происходит увеличение дипольного момента молекулы, однако в меньшей степени, чем в случае 2-аминобензолсульфоновой кислоты. Более того, присоединение аминогруппы в данном случае не приводит к существенным изменениям распределения электронной плотности в молекуле (см. табл. 2).

В случае присоединения аминогруппы в положение 4 ароматического кольца бензолсульфоновой кислоты образуется цепь сопряжения между аминогруппой и сульфогруппой, о чем свидетельствуют малая величина отрицательного заряда на атоме азота, уменьшение относительного положительного заряда на атоме серы и увеличение дипольного момента молекулы по сравнению с 3-аминобензолсульфоновой кислотой.

Вышеприведенные данные показывают, что несмотря на то что введение аминогруппы в молекулу бензолсульфоновой кислоты во всех трех случаях приводило к увеличению дипольного момента, потенциальная применимость данных кислот в качестве электронодонорных лигандов зависит от положения функциональной группы. В данном случае электронодонорные свойства убывают в ряду 4-аминобензолсульфовая кислота – 2-аминобензолсульфовая кислота – 3-аминобензолсульфовая кислота.

Произведен расчет электронной структуры и геометрии молекул ароматических кислот, анионы которых могут быть использованы в качестве

электронодонорных лигандов. Согласно данным расчета, наилучшими электронодонорными свойствами среди исследуемых соединений должен обладать анион 4-аминобензолсульфоновой кислоты, в пользу чего свидетельствует максимальное значение дипольного момента, сильный отрицательный заряд на атоме кислорода сульфогруппы, а также наличие дополнительного поставщика электронов – атома кислорода карбоксильной группы. Также хорошими электронодонорными свойствами, согласно данным расчета, должна обладать 2-аминобензолсульфовая кислота.

*Авторы выражают благодарность С. П. Муштаковой за ценные советы и замечания.*

## Список литературы

1. Yu H. B., Yu P., Bai H. Y. Lutetium and thulium based rare earth bulk metallic glasses // J. of Non-Crystalline Solids. 2008. Iss. 354. P. 4539–4542.
2. Qiu Guanming, Li Xikun, Qiu Tai et al. Application of Rare Earths in Advanced Ceramic Materials // J. of rare earths. 2007. Vol. 25. P. 281.
3. Parac-Vogt T. N., Deleersnyder K., Binnemans K. Lanthanide(III) complexes of aromatic sulfonic acids as catalysts for the nitration of toluene // J. of Alloys and Compounds. 2004. Vol. 374, iss. 1–2. P. 46–49.
4. Freidzon A. Ya., Scherbinin A. V., Bagaturyants A. A., Alfimov M. V. Ab Initio Study of Phosphorescent Emitters Based on Rare-Earth Complexes with Organic Ligands for Organic Electroluminescent Devices // J. of Physical Chemistry. A. 2011. Vol. 115, iss. 8. P. 4565–4573.
5. Hao Liang, Fang Xie Optical investigation of Sm(III)-β-diketonate complexes with different neutral ligands // Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2009. Vol. 73, iss. 2. P. 309–312.
6. Tsaryuk V., Zhuravlev K., Zolin V. et al. Regulation of excitation and luminescence efficiencies of europium and terbium benzoates and 8-oxyquinolates by modification of ligands // J. of Photochemistry and Photobiology A : Chemistry. 2006. Vol. 177, iss. 2–3. P. 314–323.
7. Juan-Fen Wang, Fan-Tao Meng, Su-Ling Xu et al. Preparation, luminescence and thermal properties of lan-





- thanide complexes with 2-chloro-4-fluorobenzoic acid // *Thermochimica Acta*. 2011. Vol. 521, iss. 1–2. P. 2–9.
8. Rogachev A. Yu., Kuz'mina N. P., Nemukhin A. V. et al. Mixed-ligand complexes based on asymmetric gadolinium  $\beta$ -diketonates: Synthesis, crystal structure and theoretical modeling // *Rus. J. of Inorganic Chemistry*. 2007. T. 52, № 9. P. 1365–1377.
9. Колесник Ю. А., Козлов В. В. Структура органических кислородных соединений серы // *Успехи химии*. 1968. Т. 37, № 7. С. 1192–1217.

УДК 544.032.7:542.05:546.14/15

## ПОЛУЧЕНИЕ КОНЦЕНТРАТОВ ИОДА И БРОМА ИЗ ПРИРОДНЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ

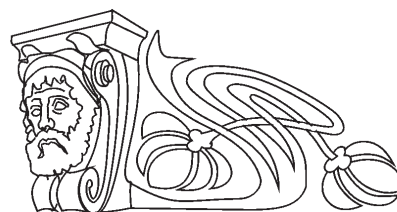
А. Г. Демахин<sup>1</sup>, С. В. Акчурин<sup>2</sup>, С. П. Муштакова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФБУ «ГосНИИЭНП», Саратов

<sup>2</sup>НИТЦ «Экохим», Саратов

<sup>3</sup>Институт химии Саратовского государственного университета

E-mail: akchurin.serzh@yandex.ru



Решена задача получения концентратов иода и брома из природных минеральных источников путем применения мобильных передвигжных комплексов, в основе работы которых лежат новые технические решения по экстракции галогенид-ионов. Указанный путь позволяет реализовать процесс получения иода и брома без строительства специализированных предприятий.

**Ключевые слова:** иод, бром, природные рассолы, ионный обмен, тетраалкиламмонийные соединения, экстракция, органический растворитель, концентрат галогена.

### Receiving of the Concentrate of the Iodine and Bromine from Different Mineral Sources

A. G. Demakhin, S. V. Akchurin, S. P. Mushtakova

Solved the problem of obtaining concentrates iodine and bromine from natural mineral sources by using mobile systems based on new technical solutions for the extraction of halide ions. This way allows implementing the process of obtaining iodine and bromine without the construction of specialized plants.

**Key words:** iodine, bromine, natural brine, ion exchange, quaternary ammonium compounds, extraction, organic solvent, concentrates of halogen.

Бром и иод, преимущественно в виде соединений, находят весьма разнообразное применение в различных областях промышленности. Несмотря на то что по сравнению с основными продуктами химической отрасли их выпуск невелик (мировое производство брома равно, примерно, 570 000 т/год, а иода – 25 000 т/год), указанные галогены и их производные имеют особое значение для народного хозяйства и удовлетворения потребностей людей, во многих случаях являясь незаменимыми и дефицитными.

Основным сырьем для получения этих элементов на территории России и ближнего зарубе-

жья являются пластовые воды, сопутствующие добыче углеводородного сырья, среднее содержание брома в которых составляет от 200 до 300 мг/л, а иода – около 20–30 мг/л.

Существенным преимуществом использования пластовых вод является отсутствие проблем обезвреживания и захоронения отработанных растворов. После извлечения ценных компонентов рассолы могут быть закачаны обратно в пласт для поддержания пластового давления без их специальной очистки, не создавая тем самым угрозы окружающей среде.

Длительный период промышленного производства указанных неметаллов привел к тому, что технологии, лежащие в основе их получения, уже мало трансформируются. Практически в мире проводится только адаптация отдельных новых технических решений к тому или иному виду сырья, а основные операции:

- нейтрализация рассолов и их подкисление;
- окисление в них галогенид-ионов до молекулярных галогенов;

- переработка бромных и иодных концентратов

не претерпевают каких-либо принципиальных изменений.

Между тем по-прежнему актуальными остаются проблемы снижения себестоимости добываемой продукции, особенно иода, находящегося в сырьевых источниках в весьма низких концентрациях.

Связано это с использованием на стадии подкисления рассолов больших количеств минеральных кислот. Дело в том, что, к примеру, 1 кг иода извлекается из 50–60 т воды, на что необхо-



димо затратить от 5 до 100 кг концентрированной серной кислоты, в зависимости от величины pH используемых рассолов.

Кроме того, применяемые на сегодняшний день технологии, вследствие жесткой территориальной привязанности производств к огромной инфраструктуре, не позволяют в полной мере использовать существующий сырьевой потенциал. Такие комплексы по причине их значительной стоимости не могут создаваться в большом количестве вблизи каждого из источников сырья, в том числе с аномально высокими концентрациями галогенид-ионов.

Выход из сложившейся ситуации может быть достигнут путем разработки научных основ и технических решений, приводящих к возможности получения первичных концентратов брома и иода из минеральных источников в варианте применения мобильных передвижных комплексов, с окончательной переработкой концентратов на стационарных производствах. Подобная модернизация, помимо всего прочего, позволит исключить из общетехнологического цикла операцию подкисления пластовых вод, а также ввести в оборот дополнительные сырьевые источники со значениями pH водных растворов от 6,5 до 8,0, содержащие повышенные концентрации ценных компонентов, неиспользуемые по причине большого расхода кислоты на их подкисление.

### Результаты и их обсуждение

Основу разработки нового подхода по извлечению брома и иода составляет обеспечение следующих базовых положений:

– *высокой скорости проводимых процессов*, что связано с необходимостью переработки значительных объемов сырья, вследствие малых концентраций извлекаемых компонентов;

– *высокой селективности* по отношению к каждому извлекаемому компоненту, что важно по причине наличия в природных рассолах смеси галогенид-ионов;

– *достаточно высокой экономичности процессов*.

Представленные положения могут быть решены путем использования в процессах извлечения галогенид-ионов реакций ионного обмена. Причиной этого является, во-первых, то, что указанные реакции протекают достаточно быстро, а во-вторых, подбор необходимых функциональных групп ионита позволяет обеспечить методу требуемую селективность.

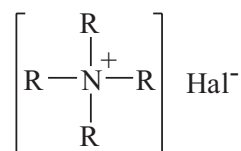
В отличие от других способов, в основе которых также лежат ионообменные реакции, в

тракуемом подходе предлагается использовать не твердые, а жидкие иониты, т.е. сочетать процессы ионного обмена с возможностями жидкостной экстракции.

Новый подход состоит из трех основных стадий:

- 1) селективная экстракция галогенид-ионов в органическую фазу;
- 2) выделение галогена в молекулярной форме и регенерация экстрагента;
- 3) получение твердых концентратов галогенов.

В качестве жидких ионитов в работе предлагается использовать четвертичные аммониевые соединения (ЧАС), растворенные в индивидуальных или смешанных органических растворителях.



Выбор экстракционных сред (анионообменного агента и органического растворителя) осуществлялся путем расчета и анализа различных энергетических и сольватационных характеристик, величин внутри- и межмолекулярной ассоциации молекул анионообменника в водной и органической фазах.

Согласно проведенным исследованиям подобраны оптимальные условия проведения процесса. Так, в частности, установлено, что высокие показатели извлечения иодид- и бромид-ионов достигаются использованием экстракционных систем, в которых анионообменный агент наиболее растворим. Последнее определяется составом и размером молекулы ЧАС и сольватирующей способностью растворителя.

Полученные экспериментальные данные показывают, что наилучшими, с позиции эффективности извлечения бромид- и иодид-ионов, являются системы, состоящие из ЧАС с симметричным объемным катионом (тетраоктиламмоний, тетрадециламмоний бромид (или хлорид)) и таких растворителей, как хлороформ, толуол, о-ксилол, трибутилфосфат. Выявленный факт объясняется низкой степенью межмолекулярной ассоциации указанных четвертичных солей, за счет стерических факторов и высокой растворяющей способности приведенных растворителей [1]. Вместе с тем установлено, что представленные растворители могут быть использованы не только в качестве основных растворителей, но



также и в виде небольших добавок. Так, к примеру, введение в такой слабый, с точки зрения сольватации ЧАС, растворитель как керосин небольших количеств трибутилфосфата или хлороформа позволяет повысить степень извлечения иодид-ионов в 10–12 раз. А исходя из того что изменение соотношения водной и органической фаз (вплоть до 40:1) не оказывает существенного влияния на показатель экстракции, указанные системы являются очень привлекательными для практического применения [2].

Помимо изучения и подбора экстракционных систем авторами также проводились исследования по установлению влияния тех или иных характеристик водно-минерального сырья на извлечение из него ценных компонентов, таких как минеральный состав вод, их рН и температура.

Экспериментально определено, что изменение рН и температуры водного раствора в достаточно широком диапазоне не оказывает практически никакого воздействия на показатели извлечения бромид- и иодид-ионов. Это обстоятельство снимает упомянутые ранее ограничения, налагаемые на используемое сырье традиционными технологиями добычи галогенов, тем самым позволяя вводить в оборот минеральные источники со значениями рН более 9, содержащие аномально высокие концентрации ценных компонентов.

Минерализация, определяемая для природных рассолов в основном содержанием хлоридов, в этом аспекте представляет собой более мощный фактор, способный оказать существенное влияние на проводимые процессы, поскольку их содержание в минеральных рассолах намного превышает содержание бромидов и иодидов. Однако влияние этого фактора на извлечение бромид- и иодид-ионов различно. Если, к примеру, для систем «тетраоктиламмоний бромид – о-ксилол» или «керосин – хлороформ» увеличение минерализации от 0 до 120 г/л приводит к снижению степени извлечения иодид-ионов не более чем на 20–25%, то при извлечении бромид-ионов аналогичной хлоридной четвертичной солью в тех же растворителях изменение минерализации даже до 5 г/л приводит к уменьшению показателя экстракции в 2–3 раза [3]. Но поскольку на территории РФ имеются огромные запасы апт-альбсеноманских вод (добывается около 100 млн м<sup>3</sup> в год), минерализация которых не превышает 20 г/л, то перспективность внедрения разработанного способа, по крайней мере для добычи иода, очевидна.

Наряду с извлечением галогенид-ионов показан достаточно простой и в то же время эффективный способ их выделения из состава анионообменного агента и дальнейшего связывания в конечный продукт. Для этих целей образующуюся после извлечения иода иодидную тетраалкиламмониевую соль обрабатывают раствором брома в органическом растворителе, а соответственно бромидную – раствором хлорной воды. Выделяющиеся в результате этого элементные галогены связываются порошком металлической меди, активированным углем или ионообменными смолами, что позволяет сформировать замкнутый цикл процесса извлечения галогенид-ионов, в котором экстрагент и органический растворитель повторно используются в новом цикле. Полученные концентраты иода и брома могут быть направлены на стационарные заводы для дальнейшей переработки до целевых продуктов.

Таким образом, в работе представлена концепция получения концентратов брома и иода, базирующаяся на применении метода ионного обмена в сочетании с жидкостной экстракцией, с использованием в качестве экстрагентов галогенид-ионов жидких ионитов различного состава, растворенных в индивидуальных или смешанных органических растворителях. Показано, что указанный подход позволяет, прежде всего, уйти от операций первичного подкисления исходного сырья (природных рассолов), очистки систем от нефтяных кислот. Простота предлагаемого технологического процесса позволяет создавать передвижные мобильные комплексы по получению концентратов галогенов из сопутствующих вод непосредственно на местах добычи нефти и газа, что, благодаря уже созданной инфраструктуре, расширит сырьевую базу для их получения при снижении себестоимости добываемой продукции.

### Список литературы

1. Демахин А. Г., Акчурун С. В., Муштакова С. П. Новый подход к проблеме извлечения йода из природных минеральных источников // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2011. Т. 11, вып. 1. С. 11–18.
2. Демахин А. Г., Акчурун С. В., Муштакова С. П. Влияние природы и свойств растворителя на степень извлечения иода из различных минеральных источников // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2011. Т. 11, вып. 2. С. 9–15.
3. Демахин А. Г., Акчурун С. В., Муштакова С. П. Физико-химические основы процесса получения концентрата брома из различных минеральных источников // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2012. Т. 12, вып. 1. С. 27–31.



УДК 544.344.2 :544.344.012-16-14

## ФАЗОВЫЕ РАВНОВЕСИЯ И КРИТИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ В ДВОЙНОЙ СИСТЕМЕ ВОДА–*n*-БУТИЛОВЫЙ СПИРТ

К. К. Ильин, А. В. Севрюгин, Д. Г. Черкасов

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



Визуально-политермическим методом в интервале – 10–125 °С изучены фазовые равновесия и критические явления в двойной системе вода–*n*-бутиловый спирт. Система характеризуется расслаиванием с верхней критической температурой растворения (ВКТР), равной 124.4 °С. При –2.4 °С в системе осуществляется невариантное монотектическое равновесие, твердой фазой которого являются кристаллы льда. Построена фазовая диаграмма системы.

**Ключевые слова:** фазовые равновесия, критические явления, двойная система, фазовая диаграмма, монотектическое состояние, расслоение, *n*-бутиловый спирт.

### Phase Equilibria and Critical Phenomena in the Water–*n*-Butyl Alcohol Binary System

К. К. Il'in, A. V. Sevryugin, D. G. Cherkasov

Phase equilibria and critical phenomena in the water–*n*-butyl alcohol binary system were studied by the visual polythermal method over the temperature range –10–125 °С. The system is characterized by delamination with an upper critical solution temperature (UCST) equal 124.4 °С. In the system at –2.4 °С, there occurs a nonvariant monotectic equilibrium whose solid phase are ice crystals. The phase diagram of the system is plotted.

**Key words:** phase equilibria, critical phenomena, binary system, phase diagram, monotectic state, delamination, *n*-butyl alcohol.

*n*-Бутиловый спирт находит широкое применение в качестве растворителя в лакокрасочной промышленности, как исходное сырье при производстве пластификаторов (фталатов, себацанатов и др.) и для синтеза бутилацетата, бутилакрилата и эфиров с гликолями, в виде топлива в автомобильных двигателях, а также как компонент гидравлических и тормозных жидкостей [1]. Поэтому актуальной задачей является определение растворимости *n*-бутилового спирта в различных растворителях, в частности в воде, в широком интервале температур.

Обзор работ по исследованию растворимости компонентов двойной системы вода–*n*-бутиловый спирт приведен в [2]. В работе [3] авторы впервые обнаружили, что область расслоения в этой системе характеризуется верхней критической температурой растворения (ВКТР), равной 125.15 °С, а содержание спирта в критическом

растворе составляет 32.5 мас.%. Кроме того, они нашли примерные составы жидких фаз и температуру (–2.95 °С) монотектического состояния. Авторы [4] после тщательной очистки воды и *n*-бутилового спирта исследовали растворимость компонентов системы в интервале 90–125 °С и установили, что ВКТР равна 124.40 °С, а в критическом растворе содержится 31.9 мас.% спирта. Обзор литературы показал, что растворимость в двойной системе вода–*n*-бутиловый спирт изучена в интервале температур от –3 °С до ВКТР. Результаты определения координат верхней критической точки (ВКТ), полученные разными авторами, заметно различаются. Не найдены точные составы равновесных жидких фаз монотектического состояния, и только в одной работе [3] определена его температура.

Настоящее исследование посвящено политермическому изучению фазовых равновесий в двойной системе вода–*n*-бутиловый спирт в интервале – 10–125 °С с целью определения координат критической точки растворимости равновесия жидкость – жидкость, температуры и составов равновесных жидких фаз монотектического состояния.

### Материалы и методы

Используемые в работе вещества подвергали тщательной очистке. Бидистиллированную воду ( $n_D^{20}=1.3330$ ) получали на аппарате DEM-20 «MERA-POLNA». Препарат *n*-бутилового спирта квалификации «ч.д.а» (Ангарский завод химреактивов, Россия) осушали прокаленным сульфатом магния в течение недели, затем фильтрат перегоняли на установке с слочным дефлегматором высотой 0.5 м и отбирали фракцию с температурой кипения 117.3–117.5 °С. Методом ГЖХ (хромато-масс-спектрометр Finnigan, модель Trace DSQ) определили, что содержание *n*-бутилового спирта в образце составляет 99.7 мас.% ( $n_D^{20}=1.3993$ ). Растворители идентифицировали по температуре кипения, показате-

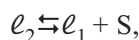


лю преломления  $n_D^{20}$  и плотности; их физические константы совпали в пределах погрешности измерений со справочными данными [1].

Фазовые равновесия в смесях компонентов двойной системы  $H_2O$ – $n-C_4H_9OH$  изучали визуально-политермическим методом [5] в стеклянных ампулах при давлении паров в интервале температур – 10–125 °С. Состав раствора, соответствующий критической точке растворимости, определяли экспериментально методом отношения объемов жидких фаз [6] и подтверждали графически путем построения диаметра Алексева [5] на поле расслоения фазовой диаграммы системы. Необходимую температуру поддерживали при помощи термостата Lauda A-100 и низкотемпературного термостата «Крио-вист-Т-05» с погрешностью  $\pm 0.1$  °С и измеряли с той же самой погрешностью калиброванными децимальными ртутными термометрами. Равновесие жидкость–жидкость в смесях компонентов устанавливалось в течение 1 ч, равновесие жидких и твердой фаз достигалось через 3 ч при непрерывном перемешивании смеси. Признаком установления равновесия являлась воспроизводимость результатов измерений температур фазовых переходов при подходе к ним со стороны как более низких, так и более высоких температур.

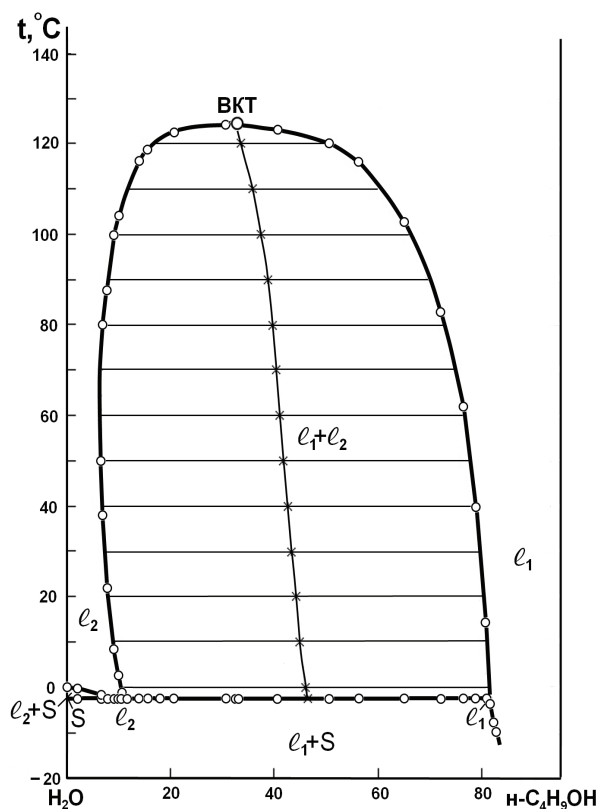
### Результаты и их обсуждение

Фазовая диаграмма двойной системы *вода– $n$ -бутиловый спирт* в интервале – 10–124.4 °С представлена на рисунке. Температуры переходов фазовых состояний в зависимости от содержания спирта в смесях компонентов приведены в табл. 1. В системе при –2.4 °С происходит невариантная монотектическая фазовая реакция:



где  $l_2$  – водная фаза,  $l_1$  – органическая фаза, S – твердая фаза, представляющая собой кристаллы льда. Ниже невариантной температуры осуществляется двухфазное моновариантное состояние  $l_1+S$ , представляющее собой насыщенный в отношении кристаллов льда раствор. Выше невариантной температуры осуществляются два моновариантных состояния: насыщенный в отношении кристаллов льда раствор с большим содержанием воды в жидкой фазе  $l_2+S$  и равновесие двух жидких фаз  $l_1+l_2$ .

Область расслоения ограничена бинадальной кривой с экспериментально найденной ВКТ, соответствующей температуре 124.4°С



Фазовая диаграмма двойной системы *вода– $n$ -бутиловый спирт* в интервале температур – 10–125 °С

и содержанию спирта в растворе 32.25 мас.%. Бинадальная кривая отделяет поле расслоения  $l_1+l_2$  от поля гомогенно-жидкого состояния, индексированного как  $l_1$  или  $l_2$ . На поле двухжидкофазного равновесия построены ноды (см. рисунок) и определены графически составы равновесных жидких фаз при пятнадцати температурах (табл. 2). В табл. 2 приведены также составы равновесных жидких фаз монотектического состояния, полученные методом графической экстраполяции линий кристаллизации и ветвей бинадальной кривой на монотектическую прямую. Через середины нод проведен диаметр Алексева, который позволил графически подтвердить состав и температуру критического раствора (ВКТ).

Полученные нами результаты по взаимной растворимости компонентов двойной системы *вода– $n$ -бутиловый спирт* в целом хорошо согласуются с данными работы [3], однако значения ВКТР и температуры монотектического состояния различаются. Значение ВКТР (124.4°С) полностью совпало со значением, полученным в работе [4], хотя содержание спирта в критическом растворе несколько отличается.



Таблица 1

**Температуры переходов фазовых состояний в зависимости от содержания *n*-бутилового спирта в двойной системе вода–*n*-бутиловый спирт**

<i>n</i> -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> OH, мас. %	Средняя температура в точках перехода фазовых состояний, °С							
	$l_1+S \rightleftharpoons l_1+l_2+S \rightleftharpoons l_2+S$	$l_2+S \rightleftharpoons l_2$	$l_1+S \rightleftharpoons l_1+l_2+S \rightleftharpoons l_1+l_2$	$l_2 \rightleftharpoons l_1+l_2$	$(l_1l_2)^K \rightleftharpoons l$	$l_1 \rightleftharpoons l_1+l_2$	$l_1+S \rightleftharpoons l_1$	
1.90	-2.4	-0.3						
6.56	-2.4	-1.4		38.0 80.1				
7.48	-2.4	-2.1		22.0 87.8				
8.85	-2.4	-2.2		8.3 99.8				
9.93	-2.4	-2.3		2.7 99.9				
10.44	-2.4			-1.2 103.9				
13.67			-2.4	116.2				
15.50			-2.4	118.9				
17.82			-2.4	119.4				
20.44			-2.4	122.5				
30.43			-2.4	123.2				
32.25			-2.4		124.4*			
32.67			-2.4			124.2		
40.40			-2.4			123.0		
50.35			-2.4			120.0		
55.98			-2.4			115.9		
64.70			-2.4			102.7		
71.80			-2.4			82.9		
76.02			-2.4			61.9		
78.65			-2.4			40.0		
80.49			-2.4			14.3		
81.38							-3.5	
82.01							-7.6	
82.40							-9.9	

Примечание. \* – верхняя критическая температура растворения (ВКТР).

Таблица 2

**Составы равновесных жидких фаз в системе вода–*n*-бутиловый спирт**

Температура, °С	Содержание <i>n</i> -C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> OH в равновесных жидких фазах, мас. %	
	Водная фаза	Органическая фаза
-2.4	11.4*	80.6*
0.0	10.4	80.8
10.0	9.2	80.4
20.0	7.6	80.2
25.0	7.2	80.0
30.0	7.0	79.6
40.0	6.4	78.2
50.0	6.2	77.4
60.0	6.2	75.8
70.0	6.4	74.8
80.0	6.6	72.4
90.0	7.6	69.9
100.0	9.0	65.4
110.0	11.6	59.6
120.0	15.0	50.6

Примечание. \* – содержание *n*-бутилового спирта в равновесных жидких фазах монотектического состояния.



Из рисунка видно, что данная двойная система имеет большую область расслоения. Одним из перспективных способов увеличения растворимости двух жидких фаз является введение солей-всаливателей. Такие соли в своем составе имеют ионы больших размеров. Полагают [7, 8], что они разрыхляют структуру воды и облегчают внедрение в нее малополярных молекул органического растворителя. Поэтому следующим этапом работы будет изучение влияния солей-всаливателей на взаимную растворимость компонентов, состав и температуру критического раствора двойной системы *вода–*n*-бутиловый спирт*.

### Список литературы

1. Химическая энциклопедия / гл. ред. И. Л. Кнунянц : в 5 т. М. : Сов. энцикл., 1988–1998. Т. 1–5.
2. De Santis R., Marrelli L., Muscetta P.N. Influence of temperature on the liquid–liquid equilibrium of the water–*n*-butyl alcohol–sodium chloride system // J. Chem. Eng. Data. 1976. Vol. 21, № 3. P. 324–327.
3. Hill A. E., Malisoff W. M. The mutual solubility of liquids. III. The mutual solubility of phenol and water. IV. The mutual solubility of normal butyl alcohol and water // J. Amer. Chem. Soc. 1926. Vol. 48, № 4. P. 918–927.
4. Reber L. A., McNabb W. M., Lucasse W. W. The effect of salts on the mutual miscibility of normal butyl alcohol and water // J. Phys. Chem. 1942. Vol. 46, № 4. P. 500–515.
5. Аносов В. Я., Озерова М. И., Фиалков Ю. Я. Основы физико-химического анализа. М. : Наука, 1976. 504 с.
6. Трейбал Р. Жидкостная экстракция / пер. с англ.; под ред. С. З. Кагана. М. : Химия, 1966. 724 с.
7. Самойлов О. Я. Структура водных растворов электролитов и гидратация ионов. М. : Изд-во АН СССР, 1957. 182 с.
8. Крестов Г. А. Термодинамика ионных процессов в растворах. Л. : Химия, 1984. 272 с.

УДК 539.193/194;535/33.34

## СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ И СПЕКТРОСКОПИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ДИМЕРОВ УРАЦИЛА И АЗАУРАЦИЛОВ

М. Д. Элькин<sup>1</sup>, А. Н. Панкратов<sup>1</sup>,  
Е. А. Джалмухамбетова<sup>2</sup>, О. М. Алыкова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет  
E-mail: elkinmd@mail.ru; E-mail: PankratovAN@info.sgu.ru  
<sup>2</sup>Астраханский государственный университет  
E-mail: alenna@list.ru; E-mail: olga-alykova@mail.ru

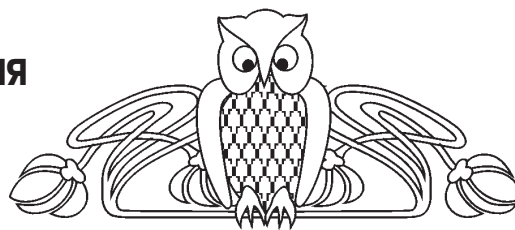
В рамках метода теории функционала плотности на основании модельных квантовохимических расчетов параметров адиабатического потенциала димеров урацила, 5- и 6-азаурацилов предложена интерпретация колебательных состояний соединений. Выявлены признаки спектроскопической идентификации веществ.

**Ключевые слова:** адиабатический потенциал, колебательные спектры, димеры урацила и азаурацилов.

### Structural Dynamic Models and Spectroscopic Identification of the Dimers of Uracil and Azauracils

М. Д. Elkin, А. Н. Pankratov,  
Е. А. Dzhalmukhambetova, О. М. Alykova

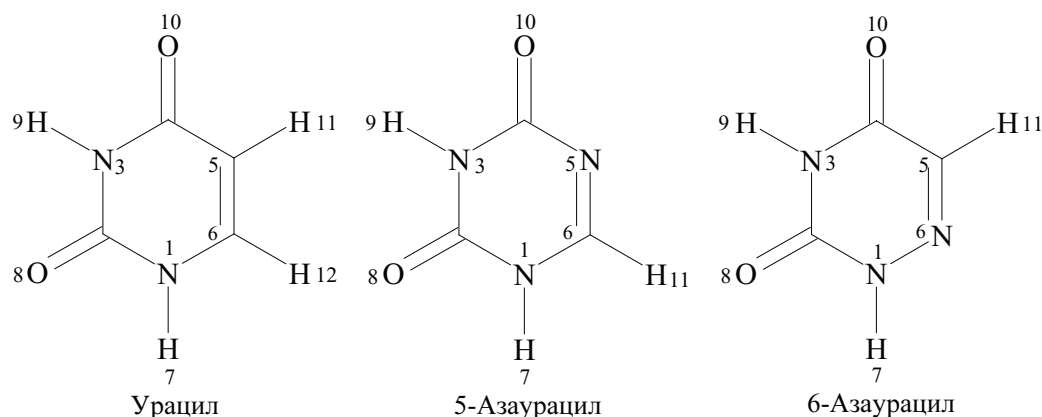
On the base of model DFT quantum chemical computations of adiabatic potential parameters for uracil, as well as for 5- and 6-azauracils



dimers, the interpretation of the above compounds vibrational states has been proposed. The indications of the substances' spectroscopic identification have been revealed.

**Key words:** adiabatic potential, vibrational spectra, dimers of uracil and azauracils.

Урацил и азаурацилы относят к биомолекулам с широким спектром фармакологического, в первую очередь, антиканцерогенного действия. С этим связан интерес к исследованию структуры и спектров указанных соединений. Сошлемся для примера на публикации [1–4]. Предлагаемая в периодической литературе интерпретация колебательных спектров урацила, 5- и 6- азаурацилов (рисунок) касалась, как правило, свободных молекул, хотя в реальных условиях соединения находятся в конденсированном состоянии.



Нумерация атомов в молекулах урацила и азаурацилов

В работе [4] была предпринята попытка учета межмолекулярного взаимодействия для твердой фазы урацила. Предполагалось, что в конденсированном состоянии имеет место димеризация соединений с образованием водородносвязанных ассоциатов. Выводы о доминирующих димерах (возможно наличие семи димеров для урацила и 6-азаурацила, шесть димеров для 5-азаурацила) были сделаны на основании анализа интенсивностей полос. Однако теоретической основой указанных исследований являлась классическая теория молекулярных колебаний [5], известными недостатками которой является зависимость результатов модельных расчетов от исходного приближения в выборе силового поля, ограниченность гармоническим приближением в оценке колебательных состояний исследуемых молекулярных объектов. Оценка электрооптических параметров осуществлялась в рамках валентно-оптической схемы, применение которой

к циклическим соединениям ставилось под вопрос авторами подхода.

Применение квантовохимических методов для построения структурно-динамических моделей циклических соединений – реальный выход из ситуации. Для ряда соединений урацилового ряда такие исследования представлены, к примеру, в публикациях [6–8]. Полученные результаты являются предварительными, а само исследование нуждается в продолжении.

#### Математическая модель колебательных состояний молекулярных систем

Для оценки положения полос в колебательных спектрах соединений использовалось известное соотношение теории молекулярных колебаний [9]:

$$E^n = \nu_s(n_s + 1/2) + \chi_{sr}(n_s + 1/2)(n_r + 1/2) \quad (1)$$

Значения ангармонических констант  $\chi_{sr}$  оценивались по соотношениям из публикации [10]:

$$\chi_{ss} = (1/16)F_{ssss} - (5/48)(F_{sss})^2/\nu_s + (1/32)(F_{ssr})^2(\Omega(s;s;-r) - \Omega(s;s;r) - 12\Omega(r;r;r))(1-\delta_{sr}), \quad (2)$$

$$\chi_{sr} = (1/16)F_{ssrr} - (1/8)(F_{ssr})^2(\Omega(s;s;-r) + \Omega(s;s;r)(1-\delta_{sr}) + (3/8)(F_{srt})^2(\Omega(s;r;t) - \Omega(s;r;-t) + \Omega(s;-r;t) - \Omega(s;-r;-t))(1-\delta_{sr})(1-\delta_{st})(1-\delta_{rt}) + L(a;s;r)^2/(\Omega(s;r;0) + \Omega(s;-r;0))/2. \quad (3)$$

В соотношениях (1)–(3)  $\nu_s$  – частоты гармонических колебаний (в  $\text{см}^{-1}$ ),  $L(a;sr)$  – постоянные Кориолиса;  $F_{srt}$  и  $F_{srtu}$  – кубические и квартичные силовые постоянные (параметры адиабатического потенциала молекулы);  $n_s$  – квантовые числа рассматриваемого колебательного состояния;  $\Omega(s;\pm r;\pm t) = (\nu_s \pm \nu_r \pm \nu_t)^{-1}$  – резонансные функции.

Оценка геометрии и параметров адиабатического потенциала мономеров и димеров урацила,

5- и 6-азаурацилов осуществлялась с помощью пакета Gaussian 03W [11] для трех атомных базисов 6-311G(d), 6-311G(d,p) и 6-311+G(d,p).

#### Результаты и их обсуждение

Как известно, для урацила и его производных характерна амид-имидольная (конкретнее – лактам-лактимная) таутомерия [12]. В настоящей работе нами рассмотрена преобладающая обычно в кристалле и растворах [12] амидная (лактаменная) форма.





Замена атома углерода шестичленного цикла урацила атомом азота приводит к заметному уменьшению значений длин валентных связей  $R_{4,5}$  и  $R_{5,6}$  ( $\sim 0.06$  Å). На величину  $\sim 4-8^\circ$  изменяются расчетные значения валентных углов  $A_{2,1,6}$ ,  $A_{4,5,6}$ ,  $A_{1,6,5}$ . Расчетные значения длин валентных связей, участвующих в образовании димеров, попадают в диапазоны:  $R_{\text{CH}} = 1.08-1.09$ ,  $R_{\text{NH}} = 1.01$ ,  $R_{\text{C=O}} = 1.20-1.21$  Å. Выбор базиса сказывается на третьем знаке мантииссы для длин связей и на втором знаке мантииссы для валентных углов.

Образование димеров не приводит к существенному изменению геометрических параметров шестичленных циклов по сравнению с мономерами. Для длин валентных связей оно не выходит за пределы  $0.01$  Å, для валентных углов  $0.8^\circ$ . Для связей  $R_{\text{N-H}}$  и  $R_{\text{C=O}}$ , участвующих в межмолекулярном взаимодействии, длина увеличивается на величину  $\sim 0.02$  Å. Длина водородной связи  $\text{O}\cdots\text{H}$  между мономерами попадает в интервал  $1.85-1.88$  Å для димеров 6-азаурацила, для 5-азаурацилов имеет место несколько более существенный разброс  $1.78-1.91$  Å. Нижняя граница соответствует димерам, в образовании которых участвует валентная связь  $R_{1,7}$ . Выбор базиса квантовохимического расчета принципиального значения не имеет.

Интерпретация колебаний мономеров и димеров урацила, 5- и 6-азаурацилов представлена в табл. 1–4. Данные приведены для базисного набора 6-311G(*d,p*). Отметим, что для димеров симметрии  $C_{2h}$  (димеры 7-8'; 8-7', 9-8'; 8-9', 10-9'; 9-10') имеет место правило альтернативного запрета для интенсивностей полос в ИК и КР колебательных спектрах [6].

Весь набор колебаний исследуемых димеров разделен на две группы. Первая группа интерпретирована как колебания молекулярных фрагментов, участвующих в образовании димера (валентные ( $q$ ) колебания связей N-H, C-N, C=O; плоские ( $\beta$ ) и неплоские ( $\rho$ ) деформационные колебания этих связей). Вторая группа колебаний интерпретирована как фундаментальные колебания урацилового остова. Отметим, что такое деление носит условный характер для плоских деформационных колебаний в диапазоне  $600-400$   $\text{cm}^{-1}$ . В этом случае имеет место перепутывание форм нормальных колебаний, интерпретированных как колебания углов

N-C=O, C-C=O ( $\beta_{\text{C=O}}$ ), и колебаний валентных углов шестичленного цикла ( $\gamma$ ).

Использование ангармонического приближения позволяет получить хорошее согласие опытных и вычисленных значений частот фундаментальных колебаний в высокочастотном диапазоне колебательного спектра. Интерес представляют валентные колебания связей N-H.

Из модельных квантовых расчетов для мономеров соединений получены следующие значения кубических и квартичных силовых постоянных связи N-H:  $F_{qqq} \sim 2310$   $\text{cm}^{-1}$ ,  $F_{qqqq} \sim 1360$   $\text{cm}^{-1}$ . Ангармоническое смещение полос в длинноволновый диапазон спектра определяют первые два слагаемых выражения (2). Это величина  $\sim 170$   $\text{cm}^{-1}$ .

Оценка кубических и квартичных силовых постоянных для валентных колебаний связей N-H, участвующих в образовании димеров, приводит к величинам:  $F_{QQQ}$ ,  $F_{QQq} \sim 1780$   $\text{cm}^{-1}$ ,  $F_{QQQQ}$ ,  $F_{QQqq}$ ,  $F_{qqqq} \sim 750$   $\text{cm}^{-1}$  (символ  $Q$  относится к колебаниям типа симметрии  $A_g$ , символ  $q$  – к антисимметричным колебаниям типа  $B_u$ ). Отметим, что для невзаимодействующих связей N-H указанные силовые постоянные оцениваются соответственно величинами  $\sim 1620$  и  $\sim 690$   $\text{cm}^{-1}$ . Согласно формулам (2) и (3), величина ангармонического смещения в длинноволновый диапазон спектра укладывается в интервал  $\sim 200-150$   $\text{cm}^{-1}$ . К таким же результатам приводит и процедура масштабирования с параметрами, используемыми в работах [7–9]. Этот факт дает основание применять указанную процедуру для предварительной оценки ангармонического смещения полос в колебательных спектрах мономеров и димеров исследуемого класса соединений.

Образование димеров приводит к появлению дублетов, энергетическая щель между которыми может достигать величины  $\sim 100$   $\text{cm}^{-1}$  для валентных колебаний связей N-H ( $q_{\text{NH}}$ ). Для неплоских деформационных колебаний этой связи ( $\rho_{\text{NH}}$ ) такая щель не превышает величины  $\sim 40$   $\text{cm}^{-1}$ . Соответствующая полоса для димеров симметрии  $C_{2h}$  имеет заметную интенсивность в ИК спектре (тип симметрии  $B_u$ ). В спектрах КР интенсивность соответствующих полос мала и непригодна для решения задачи спектроскопической идентификации различных димеров урацила и азаурацилов. По этой причине в таблицах они не приводятся.



Таблица 1

Интерпретация колебаний в димерах урацила и азаурацилов симметрии  $C_{2h}$

Форма колеб.	$\nu_{\text{эксп}}$ [1,3]	Мономер			7-8';8-7'			9-8';8-9'			9-10';10-9'		
		$\nu_{\text{анг}}$	ИК	КР	$\nu_{\text{анг}}$	ИК	КР	$\nu_{\text{анг}}$	ИК	КР	$\nu_{\text{анг}}$	ИК	КР
Урацил													
$q_{\text{NH}}$	3484	3463	99	95	3424	118	149	3462	194	170	3463	200	248
$q_{\text{NH}}$	3435	3424	60	77	3107	3142	827	3176	1737	533	3114	2243	609
$Q_{\text{C=O}}$	1764	1765	599	11	1735	511	103	1732	780	69	1769	1119	22
$Q_{\text{C=O}}$	1741	1729	625	37	1707	2817	20	1719	1980	40	1686	1764	129
$\beta_{\text{NH}}, Q$	1472	1455	86	10	1511	90	90	1453	163	22	1467	155	29
$\beta_{\text{NH}}, \beta$	1399	1377	5.4	0.5	1398	251	5.2	1426	12	31	1431	38	47
$\beta_{\text{NH}}, \beta$	1389	1363	84	2.2	1374	38	10	1379	358	0.5	1374	113	4.9
$\beta_{\text{C=O}}$	559	548	3.8	2.6	560	9.6	7.7	553	39	3.0	553	3.7	5.3
$\beta_{\text{C=O}}$	391	380	20	1.9	391	60	3.7	390	82	3.0	393	97	3.0
$\rho_{\text{C=O}}$	804	800	71	0.8	805	134	0.9	798	63	2.2	793	62	2.2
$\rho_{\text{C=O}}$	722	754	40	0.0	757	33	0.4	746	20	0.5	748	30	0.4
$\rho_{\text{NH}}$	662	672	72	2.3	672	88	4.6	884	198	–	911	182	0.2
$\rho_{\text{NH}}$	551	555	44	1.0	861	188	–	565	121	1.7	570	118	1.7
5-Азаурацил													
$q_{\text{NH}}$	3464	3447	94	101	3424	125	166	3446	187	188	3445	184	257
$q_{\text{NH}}$	3437	3426	61	86	3090	2874	719	3189	1587	472	3118	2152	551
$Q_{\text{C=O}}$	1796	1785	438	15	1770	613	83	1766	459	58	1790	962	26
$Q_{\text{C=O}}$	1780	1763	721	21	1724	2440	22	1736	2160	24	1709	1725	77
$\beta_{\text{NH}}$	1454	1438	119	5.9	1498	232	61	1437	198	19	1452	152	33
$\beta, \beta_{\text{NH}}$	1393	1375	19	4.0	1375	252	16	1420	29	27	1429	142	15
$\beta, \beta_{\text{NH}}$	1375	1357	6.9	9.8	1356	35	18	1369	41	13	1370	78	22
$\beta_{\text{C=O}}$	587	588	0.7	4.5	594	0.6	19	593	7.1	8.8	592	28	6.2
$\beta_{\text{C=O}}$	402	391	17	2.2	404	52	4.5	401	65	3.6	402	85	3.9
$\rho_{\text{C=O}}$	786	781	41	0.6	783	129	0.0	780	26	1.5	783	25	1.0
$\rho_{\text{C=O}}$	757	752	28	0.3	750	0.0	0.8	749	15	0.8	750	27	0.8
$\rho_{\text{NH}}$	662	676	94	2.0	676	99	0.0	874	193	0.1	904	176	0.2
$\rho_{\text{NH}}$	587	592	44	1.1	861	169	0.0	600	152	1.3	611	135	1.4
6-Азаурацил													
$q_{\text{NH}}$	3476	3455	100	102	3412	136	154	3452	223	179	3452	209	265
$q_{\text{NH}}$	3423	3413	64	80	3210	2466	776	3158	1880	518	3153	2014	552
$Q_{\text{C=O}}$	1783	1773	523	12	1743	321	166	1724	451	103	1777	983	26
$Q_{\text{C=O}}$	1767	1738	537	31	1723	2925	22	1704	2349	45	1693	1441	91
$\beta_{\text{NH}}$	1431	1422	30	12	1480	123	148	1424	35	47	1442	31	43
$\beta_{\text{NH}}$	1405	1379	42	3.5	1381	185	7.3	1412	11	18	1407	48	49
$Q, \beta_{\text{NH}}$	1362	1347	98	5.4	1356	80	32	1372	378	11	1371	223	4.8
$\gamma, \beta_{\text{C=O}}$	550	546	13	4.0	554	56	8.4	551	105	6.3	554	37	9.5
$\beta_{\text{C=O}}$	385	376	23	1.7	385	64	3.7	386	95	2.3	387	104	3.0
$\rho_{\text{C=O}}$	750	753	30	0.4	754	115	0.4	728	6.8	1.7	745	7.9	1.0
$\rho_{\text{C=O}}$	739	732	21	0.9	730	0.2	1.2	723	11	0.2	733	17	0.2
$\rho_{\text{NH}}$	668	684	126	1.2	676	104	1.5	863	222	–	907	176	0.0
$\rho_{\text{NH}}$	576	605	42	1.4	851	205	0.0	600	193	0.1	627	189	1.3

Примечание. В табл. 1–4 частоты приведены в  $\text{см}^{-1}$ . В графах «ИК» и «КР» табл. 1 и 2, а в некоторых случаях (поскольку у 5-азаурацила нет димера типа 10-11';9-10') также табл. 3 и 4, представлены интенсивности полос ИК спектров в  $\text{км/моль}$ , интенсивности линий спектров КР в  $\text{Å}^4/\text{а.е.м.}$



Таблица 2

Интерпретация колебаний в димерах урацила и азаурацилов симметрии  $C_s$

Форма колеб.	8-7';9-8'			10-7';9-8'			10-9';9-8'			10-11';9-10'		
	$\nu_{\text{анг}}$	ИК	КР	$\nu_{\text{анг}}$	ИК	КР	$\nu_{\text{анг}}$	ИК	КР	$\nu_{\text{анг}}$	ИК	КР
Урацил												
$q_{\text{NH}}$	3448	97	90	3442	164	196	3641	197	208	3462	204	248
$q_{\text{NH}}$	3148	2396	680	3115	2583	111	3159	1999	574	3422	62	67
$Q_{\text{C=O}}$	1737	890	86	1753	856	57	1750	787	49	1766	1237	21
$Q_{\text{C=O}}$	1715	2104	30	1697	2242	84	1706	2024	85	1697	1636	135
$\beta_{\text{NH}}$	1489	130	52	1491	140	68	1461	159	26	1461	155	28
$\beta_{\text{NH}}$	1415	138	22	1418	145	26	1431	31	39	1435	26	14
$\beta, \beta_{\text{NH}}$	1376	230	3.9	1362	46	20	1375	222	2.8	1377	145	5.8
$\beta_{\text{C=O}}$	560	44	4.0	559	7.3	5.2	555	30	3.9	552	7.6	8.1
$\beta_{\text{C=O}}$	396	71	3.3	398	77	2.3	397	90	3.0	391	65	4.1
$\rho_{\text{NH}}$	890	145	0.1	894	164	0.1	901	182	0.1	882	121	0.1
$\rho_{\text{NH}}$	818	31	0.8	839	28	0.8	872	6.8	0.1	–	–	–
$\rho_{\text{C=O}}$	801	121	1.5	797	97	1.9	795	66	2.2	792	30	1.3
$\rho_{\text{C=O}}$	752	26	0.5	752	34	0.4	747	25	0.4	752	62	0.3
$\rho_{\text{NH}}$	669	42	2.3	669	43	2.4	–	–	–	674	72	2.0
$\rho_{\text{NH}}$	557	63	0.9	581	59	9.8	565	121	1.8	568	108	1.7
5-Азаурацил												
$q_{\text{NH}}$	3446	125	179	3434	161	212	3447	187	224	–	–	–
$q_{\text{NH}}$	3208	1858	596	3120	2555	633	3177	1814	503	–	–	–
$Q_{\text{C=O}}$	1771	648	67	1778	819	53	1778	695	42	–	–	–
$Q_{\text{C=O}}$	1729	2153	25	1719	2024	49	1729	1965	51	–	–	–
$\beta_{\text{NH}}$	1501	113	26	1493	171	36	–	–	–	–	–	–
$\beta_{\text{NH}}$	1441	91	27	1446	153	21	1438	259	49	–	–	–
$\beta, \beta_{\text{NH}}$	1377	159	24	1374	243	21	1365	322	27	–	–	–
$\beta_{\text{C=O}}$	592	3.4	13	596	22	12	594	18	7.3	–	–	–
$\beta_{\text{C=O}}$	407	56	4	410	66	4.1	408	70	3.7	–	–	–
$\rho_{\text{NH}}$	885	170	0.1	887	163	0.1	888	182	0.0	–	–	–
$\rho_{\text{NH}}$	823	30	0.4	844	7.5	0.5	859	3.5	0.1	–	–	–
$\rho_{\text{C=O}}$	781	99	1.2	784	76	0.9	781	27	1.3	–	–	–
$\rho_{\text{C=O}}$	750	6.1	0.7	750	16	0.8	750	20	0.8	–	–	–
$\rho_{\text{NH}}$	684	49	2.2	672	51	2.2	–	–	–	–	–	–
$\rho_{\text{NH}}$	599	86	0.7	620	75	0.7	602	151	1.5	–	–	–
6-Азаурацил												
$q_{\text{NH}}$	3457	166	171	3432	169	210	3456	207	224	3454	211	256
$q_{\text{NH}}$	3176	2159	656	3163	2230	671	3146	1961	546	3409	1061	407
$Q_{\text{C=O}}$	1748	554	74	1760	675	59	1760	604	46	1776	1099	24
$Q_{\text{C=O}}$	1724	2120	34	1709	1962	62	1712	1856	63	1708	1386	101
$\beta_{\text{NH}}$	1478	61	60	1460	75	93	1436	43	44	1430	43	30
$\beta_{\text{NH}}, Q$	1421	33	35	1409	113	26	1410	33	32	1406	21	20
$Q, \beta_{\text{NH}}$	1380	324	5.1	1362	164	13	1375	290	5.3	1370	262	13
$\beta_{\text{C=O}}, \gamma$	539	64	1.4	541	111	1.4	541	32	1.3	534	90	0.5
$\beta_{\text{C=O}}$	391	77	2.9	392	82	2.9	401	99	3.0	386	73	3.6
$\rho_{\text{NH}}$	880	185	6.1	890	142	0.1	891	202	1.3	866	104	0.4
$\rho_{\text{NH}}$	826	41	0.5	838	31	0.7	–	–	–	–	–	–
$\rho_{\text{C=O}}$	751	58	1.1	743	70	2.4	732	21	1.3	746	65	2.0
$\rho_{\text{NH}}$	674	47	1.9	674	47	2.0	–	–	–	688	115	1.1
$\rho_{\text{NH}}$	612	94	0.8	628	93	0.7	626	190	1.4	619	136	1.9



Таблица 3

Интерпретация колебаний урацилового остова в димерах урацила и азаурацилов симметрии  $C_{2h}$

Форма колеб.	$\nu_{\text{эксп}} [1,3]$	$\nu_{\text{анг}}$	Максимум		Мономер		7,8';8,7'		9,8';8,9'		9,10';10,9'	
			ИК	КР	ИК	КР	ИК	КР	ИК	КР	ИК	КР
Урацил												
$Q, \beta, \gamma$	1643	1622	183	35	0.4	0.5	1.0	0.9	0.6	1.0	0.4	1.0
$Q, \beta$	1360	1350	185	28	0.4	0.4	0.2	1.0	0.4	0.6	1.0	1.0
$\beta, \beta_{\text{CN}}$	1217	1198	158	39	0.1	0.3	1.0	0.2	0.1	0.6	0.1	1.0
$Q, \beta_{\text{CN}}$	1184	1165	195	42	0.4	0.1	0.4	1.0	1.0	0.1	0.8	0.1
$\beta, Q$	1073	1060	18	19	0.3	0.3	1.0	1.0	0.6	0.6	0.5	0.6
$\gamma$	982	969	34	12	0.2	0.0	1.0	1.0	1.0	0.2	1.0	0.1
$\beta_{\text{CN}}, Q$	958	947	53	15	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	1.0	1.0
$\gamma$	759	757	21	54	0.1	0.4	1.0	0.7	0.4	1.0	0.5	1.0
$\gamma, \beta_{\text{C=O}}$	536	535	75	20	0.1	0.2	1.0	1.0	0.9	0.4	0.7	0.4
$\gamma$	516	514	101	6.6	0.2	0.3	1.0	1.0	0.2	0.9	0.7	0.7
$\rho$	718	714	44	3.9	0.3	0.5	0.0	1.0	1.0	0.9	1.0	0.6
$\chi$	395	396	38	4.4	0.7	0.4	0.6	0.5	0.8	0.8	1.0	1.0
5-Азаурацил												
$Q, \beta, \gamma$	1643	1630	864	34	0.4	0.3	1.0	0.6	0.7	0.6	1.0	1.0
$Q, \beta_{\text{C=O}}$	1313	1349	543	18	0.4	0.2	0.4	0.3	1.0	0.8	0.7	1.0
$Q, \beta_{\text{NH}}$	1177	1157	209	19	0.4	0.2	0.8	1.0	1.0	0.2	0.5	0.3
$Q, \beta_{\text{C=O}}$	1101	1076	39	5.6	0.2	0.4	1.0	0.4	0.1	0.8	0.3	1.0
$\gamma, Q$	1009	982	86	14	0.2	0.0	1.0	1.0	0.4	0.1	0.9	0.5
$\gamma$	937	926	78	6.7	0.1	0.4	0.4	0.4	1.0	0.7	0.2	1.0
$Q, \gamma$	757	785	23	52	0.3	0.3	1.0	0.7	0.8	1.0	0.9	1.0
$\gamma$	557	557	49	12	0.1	0.4	0.2	1.0	1.0	0.6	0.6	0.7
$\gamma$	513	510	115	4.1	0.1	0.4	1.0	0.9	0.2	1.0	0.3	1.0
$\chi$	402	413	46	3.4	0.7	0.3	0.5	0.4	0.9	0.8	1.0	1.0
6-Азаурацил												
$Q, \beta_{\text{NH}}$	1616	1591	63	44	0.4	0.4	1.0	0.6	0.8	1.0	0.6	0.8
$\beta$	1329	1316	112	7.6	0.3	0.3	0.8	0.8	0.6	1.0	1.0	0.4
$Q, \beta_{\text{NH}}$	1231	1199	103	101	0.5	0.2	0.8	1.0	1.0	0.4	0.7	0.6
$Q, \beta$	1099	1094	54	5.2	0.4	0.4	0.2	0.3	0.8	0.3	1.0	1.0
$\gamma, Q$	1002	987	87	19	0.1	0.0	1.0	1.0	0.6	0.5	0.0	0.1
$Q, \beta_{\text{NH}}$	973	956	59	30	0.4	0.2	0.8	0.3	0.0	0.3	1.0	1.0
$\gamma$	750	730	41	50	0.2	0.3	1.0	0.7	0.6	1.0	0.6	0.8
$\beta_{\text{C=O}}, \gamma$	533	533	128	2.1	0.2	0.1	1.0	1.0	0.4	0.2	0.2	0.2
$\beta_{\text{C=O}}, \gamma$	518	518	109	24	0.1	0.2	0.2	1.0	0.2	0.5	1.0	0.3
$\rho$	–	874	42	2.9	0.5	0.4	0.5	0.7	0.4	0.5	1.0	1.0



Таблица 4

**Интерпретация колебаний урацилового остова в димерах урацила и азаурацилов симметрии  $C_s$**

Форма колеб.	$\nu_{\text{эксп}} [1,3]$	$\nu_{\text{анг}}$	Максимум		8,7';9,8'		10,7';9,8'		10,9';9,8'		10,11';9,10'	
			ИК	КР	ИК	КР	ИК	КР	ИК	КР	ИК	КР
Урацил												
$Q, \beta_{C=O}$	1643	1631	176	28	0.4	0.8	0.7	1.0	0.8	0.8	1.0	0.7
$Q, \beta$	1360	1347	73	56	1.0	0.3	1.0	0.5	0.1	0.6	0.1	1.0
$Q, \beta$	1184	1164	200	24	0.7	0.9	0.6	1.0	0.9	0.1	1.0	0.2
$Q, \beta_{C=O}$	1073	1084	37	21	0.4	0.7	0.4	0.9	0.3	0.5	1.0	1.0
$\gamma, Q$	982	984	35	4.9	0.9	1.0	1.0	1.0	1.0	0.3	1.0	0.2
$\gamma$	958	930	37	9.4	0.5	0.4	1.0	1.0	0.9	0.9	0.8	0.9
$Q, \gamma$	759	786	12	54	1.0	0.9	1.0	0.9	0.7	1.0	0.8	0.9
$\gamma$	536	560	59	12	0.8	1.0	1.0	1.0	1.0	0.6	0.6	0.8
$\gamma$	516	515	89	8.4	0.7	0.9	1.0	1.0	0.4	0.8	0.8	0.6
$\rho$	958	960	43	3.9	0.5	1.0	0.6	0.8	1.0	0.8	0.6	0.6
$\chi$	395	416	41	4.5	0.7	0.6	0.8	0.7	0.9	0.9	1.0	1.0
5-Азаурацил												
$Q, \beta_{NH}$	1643	1631	833	27	0.8	0.7	1.0	1.0	0.8	1.0	–	–
$Q, \beta_{C=O}$	1313	1347	429	28	1.0	0.6	0.6	1.0	0.5	0.3	–	–
$Q, \beta$	1177	1164	185	16	1.0	0.7	0.6	1.0	0.9	0.3	–	–
$Q, \beta_{C=O}$	1101	1084	29	4.6	0.9	0.8	1.0	0.9	0.3	1.0	–	–
$\gamma, Q$	1009	984	80	10	0.7	0.6	1.0	1.0	0.7	0.4	–	–
$\gamma$	937	930	56	5.7	1.0	0.7	0.5	0.8	0.8	1.0	–	–
$Q, \gamma$	757	786	21	51	0.9	0.9	0.8	0.9	1.0	1.0	–	–
$\gamma$	557	560	46	9.5	1.0	0.9	0.5	1.0	0.8	0.9	–	–
$\gamma$	513	515	65	4.8	0.7	0.9	1.0	1.0	0.5	0.8	–	–
$\rho$	–	960	5.1	4.9	1.0	1.0	0.6	0.6	0.9	0.7	–	–
$\chi$	402	416	45	2.1	0.8	0.9	0.8	1.0	1.0	0.5	–	–
6-Азаурацил												
$Q, \beta_{NH}$	1616	1593	53	42	0.8	0.7	0.8	0.7	0.8	0.9	1.0	1.0
$\beta$	1329	1315	95	22	0.7	0.3	1.0	0.2	0.9	0.2	0.6	1.0
$Q, \beta_{NH}$	1231	1204	114	74	0.7	0.8	0.6	1.0	0.7	0.7	1.0	1.0
$Q, \beta$	1099	1099	97	4.4	0.3	0.5	0.4	1.0	0.5	0.9	1.0	0.9
$\gamma, Q$	1002	990	63	8.2	1.0	1.0	0.7	0.8	0.4	0.4	0.2	0.4
$Q, \beta_{NH}$	973	964	64	19	0.3	0.5	0.8	1.0	0.5	1.0	1.0	0.9
$\gamma$	750	730	31	44	1.0	1.0	1.0	0.8	0.8	1.0	0.8	0.9
$\beta_{C=O, \gamma}$	533	539	111	1.4	0.6	1.0	1.0	1.0	0.3	0.9	0.8	0.4
$\beta_{C=O, \gamma}$	518	521	55	15	0.4	1.0	0.5	0.9	1.0	0.6	0.4	0.6
$\rho$	880	881	45	2.7	0.2	0.4	1.0	1.0	0.5	0.6	0.6	0.7



Расщеплению и сдвигу подвержены полосы, интерпретированные как валентные колебания связей C=O ( $Q_{C=O}$ ) и плоские деформационные колебания валентных углов CNH ( $\beta_{NH}$ ). Указанные колебания попадают в диапазон 1780–1730  $\text{см}^{-1}$  и 1500–1350  $\text{см}^{-1}$  соответственно. Интенсивность полос указанных колебаний может быть использована для спектроскопической идентификации соединений в случае, если щель между полосами превышает величину  $\sim 50 \text{ см}^{-1}$ .

Таким образом, наиболее надежным признаком спектроскопической идентификации димеров следует признать положение и интенсивность полос неплоских деформационных колебаний связей N-H ( $\rho_{NH}$ ).

Отметим, что оценка положения полос, приведенная в табл. 1–4, связана с центром интервала их расщепления. Отклонение не превышает величины  $\sim 10 \text{ см}^{-1}$  для полос, интерпретированных как колебания урацилового остова, а также для всех полос в диапазоне ниже 1300  $\text{см}^{-1}$ . Отсюда и отраженная в табл. 1–4 характеристичность указанных фундаментальных колебаний по частоте. Указанные колебания являются также характеристичными и по форме. Признаками спектроскопической идентификации в этом случае могут служить их интенсивности полос в спектрах ИК и КР.

О характере межмолекулярного взаимодействия можно судить по смещениям полос, интерпретированных как валентные ( $q_{NH}$ ) и неплоские деформационные ( $\rho_{NH}$ ) колебания связей N-H. Валентные колебания смещаются в длинноволновый диапазон на величину порядка  $\sim 300 \text{ см}^{-1}$ , деформационные – в коротковолновый диапазон на величину  $\sim 200 \text{ см}^{-1}$ . Учитывая расчетные значения для длины связей между атомами водорода и кислорода, участвующих в образовании димеров, можно сделать вывод о наличии водородных связей между мономерными молекулами в димерах урацила и азаурацилов.

В табл. 3 и 4 применительно к мономерам и димерам даны относительные значения интенсивностей полос по отношению к максимальным величинам для конкретного колебания. Такое представление позволяет выявить: 1) возможность использования полосы в качестве признака спектроскопической идентификации соединений (как правило, это сильные по интенсивности полосы); 2) димеры с наибольшей по величине относительной интенсивностью (доминирующие по выявленному признаку); 3) влияние процесса

димеризации на основные спектроскопические характеристики полос мономеров, составляющих димер.

Проведенные модельные расчеты дают основание к использованию метода теорий функционала плотности DFT в варианте B3LYP для построения структурно-динамических моделей соединений ряда урацила и решения задачи спектроскопической идентификации водородно-связанных димеров соединений. Показано, что образование димеров приводит к существенному смещению полос, интерпретированных как валентные и деформационные колебания связи N-H, участвующей в образовании водородной связи. Для спектроскопической идентификации димеров можно использовать интенсивности полос в колебательных спектрах, а также положение полос в диапазоне 900–600  $\text{см}^{-1}$ , интерпретированных как неплоские деформационные колебания связей N-H. Более детальный анализ требует учета прототропной таутомерии урацила и азаурацилов. Отметим однако, что полосы, отвечающие валентным колебаниям связей N-H, являются характеристичными по частоте, форме и при наличии (всегда [12]) в равновесных смесях NH-таутомеров обеспечивают идентификацию веществ, в том числе на реализованном в настоящей работе уровне рассмотрения. Диапазон проявления частот скелетных колебаний циклов амидных (лактамных) таутомеров одинаков для всех рассмотренных и подобных им шестичленных азациклов и определяется  $\pi$ -электронами колец [5]. В задачах спектроскопической идентификации их использование затруднено. Указанные колебания проявляются в спектральном диапазоне  $\sim 1600$ – $1300 \text{ см}^{-1}$  как полосы сильной интенсивности в ИК спектрах. Отметим, что аналогичный характер поведения полос скелетных колебаний имеет место и в имидольном (лактимном) таутомере, а также в гипотетических формах с оляцией лишь одной из карбонильных групп. Для спектральной идентификации всех трёх названных OH-содержащих форм можно использовать полосы, интерпретированные как валентные ( $\sim 3650$ – $3550 \text{ см}^{-1}$ ), плоские деформационные ( $\sim 1250$ – $1200 \text{ см}^{-1}$ ) и крутильные ( $\sim 550$ – $150 \text{ см}^{-1}$ ) колебания связей O-H. Разброс значений определяется взаимным расположением гидроксильной группы и связи N-H в моногидроксилированных структурах. Димеризация моно-OH-форм приводит к существенному сдвигу полос, интерпретированных как валентные и неплоские деформационные колебания связей N-H, участвующих в образовании димеров.



Отметим, что эксперимент по колебательным спектрам урацила в замороженных матрицах подтверждает возможность наличия различных таутомерных форм. Наблюдаются группы полос с размерами щелей в каждой группе  $\sim 15\text{-}5\text{ см}^{-1}$ . В газовой фазе каждая такая группа проявляется в виде полосы сплошного контура [13].

#### Список литературы

1. *Fulara J., Nowak M. J., Lapinski L.* Theoretical and matrix-isolation experimental study of the infrared spectra of 5-azauracil and 6-azauracil // *Spectrochim. Acta.* 1991. Vol. 47A, № 5. P. 595–613.
2. *Potter B. S., Palmer R. A., Withnall R., Chowdhury B. Z.* Aza analog of nucleic acid bases: Infrared spectra of 5-azauracil and crystal structure of 5-azauracil monohydrate // *New J. Chem.* 1999. Vol. 23, № 1. P. 117–122.
3. *Тен Г. Н., Бурова Т. Г., Баранов В. И.* Анализ ИК спектров и водородных связей урацила // *Журн. структур. химии.* 2001. Т. 42, № 4. С. 666–676.
4. *Mitran R. A., Bascornea A. C.* Some unusual spectral properties of 6-azauracil derivatives // *U.P.B. Sci. Bull. Ser. B.* 2011. Vol. 73, № 1. P. 67–74.
5. *Свердлов Л. М., Ковнер М. А., Крайнов Е. П.* Колебательные спектры многоатомных молекул. М.: Наука, 1970. 550 с.
6. *Элькин П. М., Пулин О. В., Джалмухамбетова Е. А.* Структурно-динамические модели и ангармонический анализ колебательных состояний замещенных урацила // *Вестн. Саратов. гос. тех. ун-та.* 2005. № 4(9). С. 36–45.
7. *Элькин П. М., Эрман М. А., Пулин В. Ф.* Анализ колебательных спектров метилзамещенных урацила в ангармоническом приближении // *Журн. прикл. спектроск.* 2006. Т. 73, № 4. С. 431–436.
8. *Элькин М. Д., Джалмухамбетова Е. А., Гречухина О. Н.* Проявление межмолекулярного взаимодействия в димерах урацила // *Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика.* 2008. Т. 8, вып. 2. С. 24–30.
9. *Hoy A. R., Mills I. M., Strey G.* Anharmonic force constants calculation // *J. Mol. Phys.* 1972. Vol. 21, № 6. P. 1265–1290.
10. *Элькин М. Д., Бабков Л. М.* Учет ангармонического смещения полос в модельных расчетах колебательных спектров димеров с водородной связью // *Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Физика.* 2011. Т. 11, вып. 1. С. 20–25.
11. *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.
12. *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. Хаггинсон, П. М. Харди, Д. Т. Элмор, Б. В. Бикрофт, Г. Лоу, Р. С. Шепард, Дж. С. Баррет, А. Дж. Кирби, Г. К. С. Вуд, Б. Т. Голдинг; под ред. Е. Хаслама. М.: Химия, 1986. 704 с.
13. *Colarusso P., Zhang KeQing, Guo Bujin, Bernath P. F.* The infrared spectra of uracil, thymine, and adenine in the gas phase // *Chem. Phys. Lett.* 1997. Vol. 269, № 1–2. P. 39–48.

УДК 543:544.42

## ПРИМЕНЕНИЕ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ В ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ НЕКОТОРЫХ АНТИОКСИДАНТОВ ПОЛИФЕНОЛЬНОЙ ПРИРОДЫ

О. Н. Сорокина<sup>1</sup>, Е. Г. Сумина<sup>2</sup>, А. В. Петракова<sup>2</sup>, В. З. Угланова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова  
E-mail: Sorokina-O-N@yandex.ru

<sup>2</sup>Саратовский государственный университет  
E-mail: SuminaEG@yandex.ru, UgjanovaVZ@mail.ru



Методом тонкослойной хроматографии изучены хроматографические свойства некоторых антиоксидантов полифенольной природы – кверцетина и рутина – в циклодекстриновых подвижных фазах при варьировании природы неподвижной фазы, природы и концентрации циклодекстринов, а также природы и концентрации модификаторов циклодекстрино-

вых подвижных фаз (органического растворителя и сильного электролита). Найдены оптимальные хроматографические системы и условия их применения в ТСХ исследуемых флавоноидов.

**Ключевые слова:** тонкослойная хроматография, флавоноиды, кверцетин, рутин, циклодекстрины.



### Application of Cyclodextrins in Thin-Layer Chromatography for Some Antioxidants of Polyphenolic Nature

O. N. Sorokina, E. G. Sumina,  
A. V. Petrakova, V. Z. Uglanova

The chromatographic properties of some antioxidants of polyphenolic nature (quercetin and rutin) were studied by thin-layer chromatography in cyclodextrin mobile phases at varying the stationary phase nature, the nature and concentration of cyclodextrins, and the nature and concentration of cyclodextrin mobile phase modifiers (an organic solvent and a strong electrolyte). Optimal chromatographic systems and conditions of their application in the TLC of flavonoids were found.

**Key words:** thin-layer chromatography, flavonoids, quercetin, rutin, cyclodextrins.

Создание новых и совершенствование известных лекарственных форм связано с разработкой новых систем доставки лекарств в организм человека, которые позволяют существенно уменьшить токсическое действие препаратов и снизить их дозировку. В этой связи актуальными являются исследования новых систем доставки лекарств, основанных на образовании комплексов включения фармакологических веществ в молекулу носителя [1–9]. Среди известных в настоящее время носителей особое внимание привлекают циклодекстрины (ЦД).

Циклодекстрины являются наиболее распространенными представителями природных молекул-рецепторов, обладающих относительно жесткой структурой и объемной гидрофобной полостью и способных образовывать в растворе устойчивые супрамолекулярные наноразмерные комплексы включения «гость – хозяин» [10]. Эффективность и селективность взаимодействия «гостей» с ЦД во многом зависит от соответствия размеров молекулы «гостя» полости «хозяина» и прочности их связывания друг с другом, которое осуществляется за счет ван-дер-ваальсовых сил, водородных связей, гидрофобного, донорно-акцепторного взаимодействия, среди которых гидрофобное играет доминирующую роль [11, 12].

Особый интерес к ЦД как носителям лекарств по сравнению с другими комплексообразователями (мочевинной, альбумином, дезоксихолиевой кислотой и др.) обусловлен тремя их свойствами: высокой стабильностью, достаточно большим диаметром полости и хорошей переносимостью организмом человека [13].

Образование комплексов включения лекарственных форм с ЦД улучшает их фармацевтические и фармакологические характеристики, что служит основой для широкого применения ЦД в аналитической фармацевтической практике, особенно в области хроматографических методов

анализа лекарств [11, 14–17]. Систематическое применение ЦД в колоночной жидкостной хроматографии лекарственных соединений началось более 20 лет назад [18–23]. Аналитические исследования в тонкослойной хроматографии (ТСХ) лекарств практически не проводились. В связи с этим целью настоящей работы является изучение возможности применения циклодекстринов в качестве подвижных фаз (ПФ) в тонкослойной хроматографии представителей полифенольных соединений (кверцетина и его гликозида рутина), выбор которых связан с разнообразной биологической активностью этих соединений, включающей антиоксидантные, капилляроукрепляющие, седативные и другие важные свойства.

### Материалы и методы

В качестве объектов исследования выбраны следующие представители флавоноидов – рутин тригидрат и кверцетин дигидрат фирмы «Alfa Aesar». Стандартные растворы исследуемых флавоноидов в 95%-м этиловом спирте с концентрацией 1 мг/мл готовили по точной навеске. Рабочие растворы готовили разбавлением стандартных в 95%-м спирте. Растворы хранили в холодильнике не более 7 дней.

Для приготовления подвижных фаз использовали исходные растворы циклодекстринов с концентрацией  $9 \cdot 10^{-2}$  и  $1 \cdot 10^{-2}$  М, которые готовили растворением точной навески вещества в дистиллированной воде (2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин, 2-ГП- $\beta$ -ЦД) и 8 М водном растворе мочевины ( $\beta$ -циклодекстрин,  $\beta$ -ЦД). Рабочие растворы всех веществ готовили разбавлением исходных перед употреблением. Циклодекстриновые ПФ модифицировали следующими органическими растворителями: ацетонитрилом (ос.ч.), этилацетатом (ч.д.а.), 1-бутанолом (х.ч.), 2-бутанолом (ч.д.а.), 2-пропанолом (х.ч.). Ионную силу растворов создавали 2.0 М раствором хлорида калия.

Для сравнения эффективности и селективности разделения исследуемых соединений в циклодекстриновых и водно-органических ПФ использовали: число теоретических тарелок (N), высоту, эквивалентную теоретической тарелке (ВЭТТ), и разрешение ( $R_s$ ).

Исследования проводили методом восходящей ТСХ на коммерческих пластинах: Сорбфил (Россия), Полиамид-6 (Германия), RP-18 (Германия). Зоны флавоноидов идентифицировали на видеоденситометре Сорбфил с УФ-лампой (TUV PL-S PHILIPS, 254 нм) по собственной флуоресценции в УФ-свете.





### Результаты и их обсуждение

Анализ полученных результатов позволил выявить следующие факторы, влияющие на эффективность действия циклодекстринов в ТСХ исследуемых флавоноидов:

- 1) природа неподвижной фазы;
- 2) природа и концентрация ЦД;

3) модификация циклодекстриновых ПФ органическим растворителем и сильным электролитом;

4) улучшение формы зон сорбатов в присутствии сильного электролита.

Пример существенного влияния *природы неподвижной фазы* на хроматографическое поведение исследуемых веществ приведен на рис. 1.

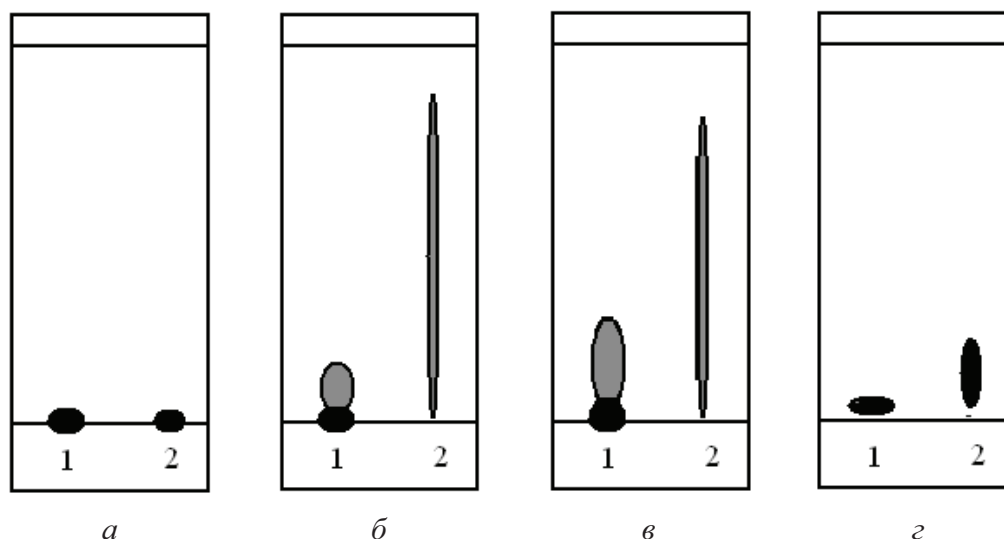


Рис. 1. Влияние природы неподвижной фазы на хроматографическое поведение кверцетина и рутина. ПФ: водный раствор 2-ГП-β-ЦД ( $C=5 \cdot 10^{-2}$  М).  $C_R=1$  мг/мл: а – RP-18, б – Сорбфил (ПП), в – Сорбфил (АI), г – Полиамид-6. 1 – кверцетин, 2 – рутин

Из рис. 1 видно, что хроматографические зоны на полярных фазах (Сорбфил (ПП) и Сорбфил (АI)) и неполярных (RP – 18) фазах либо сильно размыты, либо имеют очень маленькие значения  $R_f$ , т.е. оба типа НФ не пригодны для разделения анализируемых веществ в ПФ на основе циклодекстринов. Хроматографические зоны сорбатов на сорбентах средней полярности (Полиамид-6) более компактны. Поэтому в дальнейшей работе использовали преимущественно эти неподвижные фазы.

Показано, что присутствие в водной ПФ низких концентраций циклодекстринов ( $1 \cdot 10^{-5}$  ÷  $1 \cdot 10^{-3}$  М), независимо от их *природы*, как правило, не изменяет подвижность сорбатов, и она равна нулю. Поэтому для дальнейших исследований, вследствие лучшей растворимости в воде и возможности приготовления более концентрированных растворов (до  $9.0 \cdot 10^{-2}$  М), был выбран 2-ГП-β-ЦД. Результаты исследований представлены на рис. 2, 3.



Рис. 2. Хроматограммы кверцетина и рутина. НФ: Полиамид-6. ПФ: 2-ГП-β-ЦД – вода ( $C(ЦД) = 9.0 \cdot 10^{-2}$  М).  $C_R = 1$  мг/мл: 1 – кверцетин, 2 – рутин, 3 – смесь кверцетина и рутина

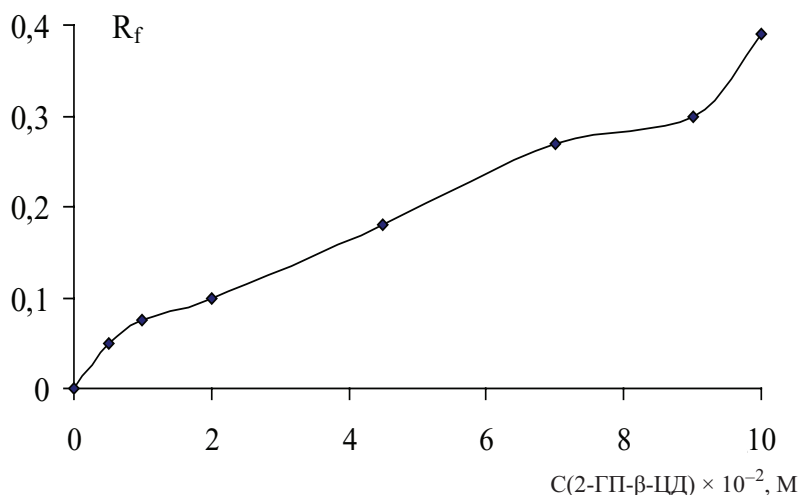


Рис. 3. Зависимость подвижности рутина от концентрации 2-ГП-β-ЦД. НФ: Полиамид-6. ПФ: 2-ГП-β-ЦД – вода.  $C_R = 1$  мг/мл

Установлено, что во всем исследуемом диапазоне концентраций 2-ГП-β-ЦД (см. рис. 2) подвижность кверцетина равна нулю, что, по-видимому, связано с несоответствием размера молекулы кверцетина полости 2-ГП-β-ЦД. Иначе ведет себя рутин, подвижность зон которого постепенно увеличивается с увеличением концентрации 2-ГП-β-ЦД в ПФ (см. рис. 3). Этот факт можно объяснить образованием водородной связи между гликозидными фрагментами в молекуле гостя (рутина) и первичными и вторичными гидроксильными группами молекулы хозяина (циклодекстрина) [14, 15]. Известно также, что введение в молекулу ЦД алкильных заместителей изменяет её форму и размер, что, вероятно, и способствует более эффективному включению сорбатов в полость ЦД [15]. Таким образом установлено, что эффективность и селективность разделения сорбатов в подвижных фазах, содержащих 2-ГП-β-ЦД, зависит от концентрации ЦД и присутствия в его молекуле заместителя.

*Модифицирование подвижной фазы органическим растворителем и сильным электролитом*

С целью улучшения хроматографических характеристик сорбатов в циклодекстриновых ПФ нами было исследовано влияние добавок органического растворителя (ацетонитрила, этилацетата, 1-бутанола, 2-бутанола, 2-пропанола) и сильного электролита (хлорида калия,  $\mu=0.25-1.25$ ). Типичные хроматограммы представлены на рис. 4, из которого видно, что введение *органического растворителя* повышает подвижность и рутина, и кверцетина. При этом изменение подвижности веществ имеет свои особенности. При введении в водно-циклодекстриновую ПФ растворителя

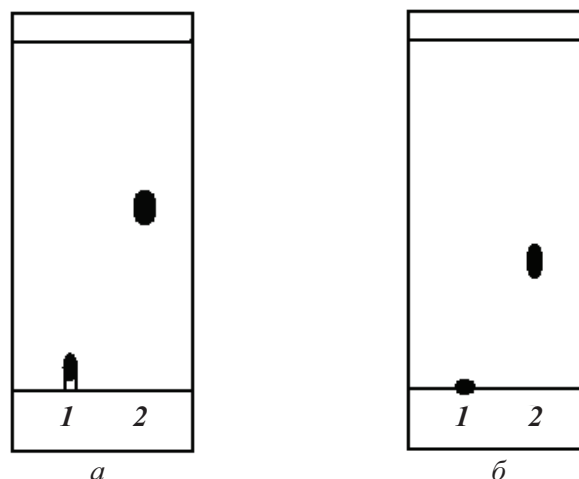


Рис. 4. Хроматограммы флавоноидов: НФ: Полиамид-6.  $C_R = 1$  мг/мл: 1 – кверцетин, 2 – рутин; а – ПФ: 2-ГП-β-ЦД (45 мМ) – 1-бутанол – вода (50:40:10); б – ПФ: 2-ГП-β-ЦД – КСl – H<sub>2</sub>O (50:10:40)

сначала наблюдается уменьшение подвижности зоны рутина практически до 0, а затем ее постепенное увеличение (рис. 5, а). Наблюдаемые зависимости могут быть связаны с протеканием конкурирующих реакций включения молекул рутина в полость ЦД, что первоначально приводит к уменьшению подвижности сорбата [24]. По мере увеличения доли растворителя в ПФ усиливается и его одновременная сорбция на полиамидном сорбенте за счет образования водородных связей, что способствует вытеснению сорбатов с поверхности НФ и увеличению значений  $R_f$ . Подвижность рутина растет более существенно, чем кверцетина. Во втором случае она увеличивается при содержании органического растворителя в ПФ 40–50% (рис. 5, б).

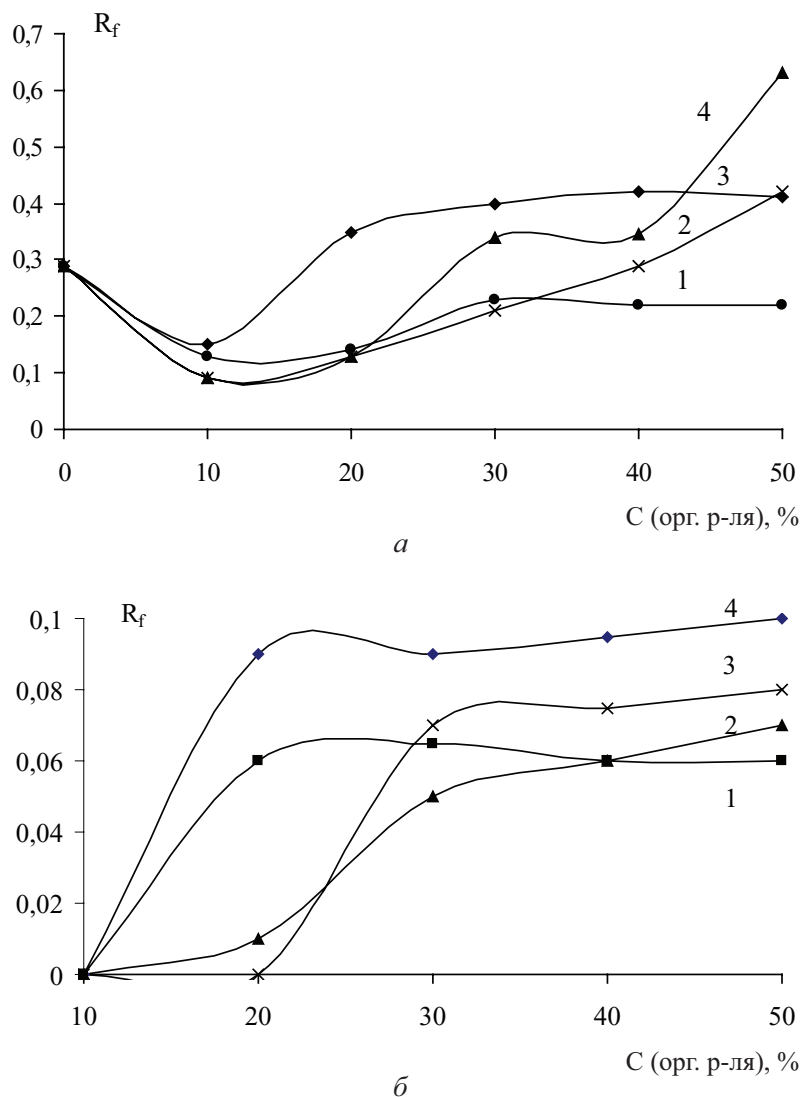


Рис. 5. Зависимость подвижности рутина (а) и кверцетина (б) от концентрации органического растворителя. НФ: Полиамид-6.  $C_R = 1$  мг/мл.  $C_{\text{цд}} = 45$  мМ. а – ПФ: 1 – 2-ГП- $\beta$ -ЦД – 2-бутанол; 2 – 2-ГП- $\beta$ -ЦД – ацетонитрил; 3 – 2-ГП- $\beta$ -ЦД – 1-бутанол; 4 – 2-ГП- $\beta$ -ЦД – 2-пропанол; б – ПФ: 1 – 2-ГП- $\beta$ -ЦД – этилацетат; 2 – 2-ГП- $\beta$ -ЦД – 2-бутанол; 3 – 2-ГП- $\beta$ -ЦД – 2-пропанол; 4 – 2-ГП- $\beta$ -ЦД – 1-бутанол

Из рис. 5 также видно, что природа растворителя мало влияет на установленные закономерности, и подвижность хроматографических зон кверцетина и рутина увеличивается по мере насыщения ПФ как протонными (различные спирты: 2-пропанол, 1-бутанол, 2-бутанол), так и апротонными (ацетонитрил, этилацетат) растворителями.

Установлено, что увеличение ионной силы раствора, так же как и введение в ПФ органического растворителя, несколько повышает подвижность рутина (рис. 6). Кверцетин по-прежнему остается на линии старта. Возможно, в этом случае также протекает конкурирующая реакция

комплексообразования между ЦД и электролитом, концентрация ионов которого на несколько порядков больше чем сорбатов. Основным положительным результатом введения электролита в циклодекстриновые ПФ является *существенное улучшение формы зон сорбируемых веществ* (см. рис. 1, 4).

Установлено, что наиболее перспективной является циклодекстриновая ПФ на основе 1-бутанола, так как в данной ПФ наблюдается движение хроматографических зон обоих сорбатов. Поэтому эту ПФ далее модифицировали введением добавок уксусной кислоты, рекомендованной в [25–26].

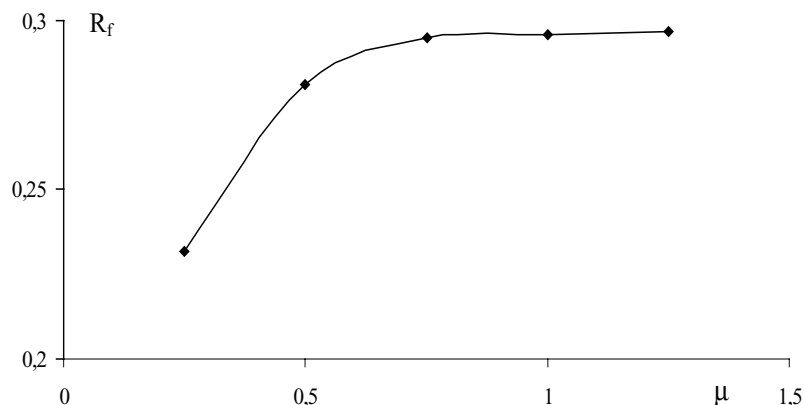


Рис. 6. Зависимость подвижности рутина от ионной силы раствора. НФ: Полиамид-6. ПФ: 2-ГП-β-ЦД – КСl – Н<sub>2</sub>O. C<sub>R</sub> = 1 мг/мл

Установлено, что добавление уксусной кислоты дополнительно увеличило подвижность и компактность хроматографических зон кверцетина и рутина, а также  $\Delta R_f$  между ними, что может быть использовано в практических целях.

Параметры эффективности и селективности для данных хроматограмм представлены в таблице, из которой видно, что значения N и H для

кверцетина несколько ухудшаются, а для рутина, наоборот, улучшаются. Установлено также, что использование циклодекстриновых ПФ вместо органических растворителей приводит к изменению порядка элюирования сорбатов. Наблюдаемое явление может быть связано с адсорбцией циклодекстрина на НФ и изменением её свойств за счет модификации поверхности.

**Параметры эффективности и селективности разделения кверцетина и рутина (n = 3, P = 0.95)**

Подвижная фаза	Сорбат	R <sub>f</sub>	N · 10 <sup>-3</sup>	ВЭТТ, мм	Rs
Этилацетат – уксусная кислота – Н <sub>2</sub> O (70:10:20)	Кверцетин	0.85	2.40	0.002	65
	Рутин	0.17	0.023	0.250	6.0
2-ГП-β-ЦД – 1-бутанол – уксусная кислота (50:40:10)	Кверцетин	0.13	0.014	0.410	5.0
	Рутин	0.80	1.40	0.004	46

**Заключение**

Методом ТСХ изучено хроматографическое поведение кверцетина и рутина в циклодекстриновых подвижных фазах при варьировании природы и концентрации ЦД, органического растворителя и электролита. Найдены оптимальные условия для разделения зон кверцетина и рутина.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 12-03-00450а).

**Список литературы**

1. Чайка Л. А., Хаджсай Я. И., Либина В. В. Фармакологические аспекты применения циклодекстринов в качестве носителей лекарственных средств // Хим.-фарм. журн. 1990. Т. 24, № 7. С. 19–22.
2. Компанцева Е. В., Гаврилин М. В., Ушакова Л. С. Производные β-циклодекстрина и перспектив их использования в фармации // Хим.-фарм. журн. 1996. Т. 26, № 4. С. 43–46.

3. Андронати С. А., Макан С. Ю., Нешадин Д. П., Якубовская Л. Н. Биодоступность циназапама при его введении в виде инклюзивного комплекса в β-циклодекстрин // Хим.-фарм. журн. 1998. Т. 32, № 10. С.3–5.
4. Астахова А. В., Демина Н. Б. Современные технологии лекарственных форм : получение, исследование и применение комплексов включения лекарственных веществ с циклодекстринами (обзор) // Хим.-фарм. журн. 2004. Т. 38, № 2. С. 46–49.
5. Компанцева Е. В., Гаврилин М. В., Монастырева И. И. Анализ и стандартизация таблеток диазолина на основе комплекса включения с β-циклодекстрином // Хим.-фарм. журн. 2000. Т. 34, № 3. С. 48–50.
6. Компанцева Е. В., Гаврилин М. В., Монастырева И. И. Использование циклодекстринов для улучшения биофармацевтических свойств диазолина // Хим.-фарм. журн. 1998. № 6. С. 46–48.
7. Хомутов С. М., Довбня Д. Б., Донова М. В. Модель растворения смеси стероидов в циклодекстриновых



- растворах // Хим.-фарм. журн. 2001. Т. 35, № 11. С. 43–45.
8. Чайка Л. А. Лекарственные формы: биофармацевтические аспекты, влияние на биодоступность и фармакодинамику лекарств // Фармаком. 1994. № 10. С. 20–21.
  9. Nakhat P. D., Naidu R. A., Babla I. B., Khan S. Design and Evaluation of Silymarin-HP HP-B-CD Solid Dispersion Tablets // Indian J. of Pharm. Sciences. 2007. Vol. 69. P. 287–289.
  10. Штыков С. Н. Организованные среды – стратегия, основанная на принципах биоподобия в аналитической химии // Вестн. ХНУ. 2000. № 495. Химия, вып. 6(29). С. 9–14.
  11. Штейнман А. А. Циклодекстрины // ЖВХО. 1985. Т. 30, № 5. С. 514–518.
  12. Компанцева Е. В., Гаврилин М. В., Ушакова Л. С. Производные  $\beta$ -циклодекстрина и перспективы их использования в фармации // Хим. фарм. журн. 1996. № 4. С. 43–46.
  13. Штейнман А. А. Циклодекстрины // ЖВХО. 1985. Т. 30, № 5. С. 514–518.
  14. Hinze W. L., Pharr D. Y., Fu Z. S., Burkert W. G. // Anal. Chem. 1989. Vol. 61. P. 422–428.
  15. Сумина Е. Г. Организованные наносистемы в тонкослойной хроматографии // Сорбц. и хроматогр. процессы. 2010. Т. 10, вып. 1. С.150–160.
  16. Сумина Е. Г., Штыков С. Н., Атаян В. З. Циклодекстрины как модификаторы подвижных и неподвижных фаз в жидкостной хроматографии // Сорбц. и хроматогр. процессы. 2005. Т. 5, вып.5. С. 719–735.
  17. Pullen R. H., Brennan J. J., Lammers R., Patonay G. Direct determination of substituted aserpinoindeole enantiomers in rat plasma using silica stationary phase and  $\beta$ -cyclodextrin as a mobile phase additive // Anal. Chem. 1995. Vol. 67, № 11. P. 1903–1909.
  18. Shimada K., Kuniko M., Makiko M. Separation of the diastereomers of baclofen by high-performance liquid chromatography using cyclodextrin as a mobile phase additive // J. Liquid. Chromatogr. 1993. Vol.16, № 15. P. 3311–3320.
  19. Cline-Love L. J., Tang J. J., Tsodicov G. Separation of enantiomers by cyclodextrin mobile phase HPLC: thermodynamic and molecular modeling studies // Pittsburgh. Conf., Anal. Chem. and Appl. Spectrosc., Chicago, Ill., Febr. 27 – March 4, 1994: Abstr. – [Chicago(III.)], 1994. P. 373–376.
  20. Amejibor E., Stewart J. T. Enantiomeric HPLC separation of selected chiral drugs using native and derivatised  $\beta$ -cyclodextrins as chiral mobile phase additives // J. Liquid. Chromatogr. Relat. Technol. 1997. Vol. 20, № 6. P. 855–869.
  21. Pettit G. R., Kantoci D., Herald D. L., Barcozy G., Slack J. A. Procedures for the analysis of dolastatins 10 and 15 by high-performance liquid chromatography // J. Liquid. Chromatogr. 1994. Vol. 17, № 1. P. 191–202.
  22. Piperaki S., Parissi-Ponlon M. Procedures for the analysis of dolastatins 10 and 15 by high-performance liquid chromatography // J. Liquid. Chromatogr. Relat. Technol. 1996. Vol.19, № 9. P. 1405–1421.
  23. Сумина Е. Г., Штыков С. Н., Тюрина Н. В. Теоретические основы и практическое применение тонкослойной хроматографии. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2002. 132 с.
  24. Бекетов Е. В., Абрамов А. А., Нестерова О. В. и др. Идентификация и количественная оценка флавоноидов в плодах черемухи обыкновенной // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2005. Т. 46, № 4. С. 259–262.
  25. Бубенчиков Р. А. Фитохимическое и фармакологическое изучение растений рода фиалка : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Купавна, 2002. 23 с.
  26. Шалдаева Т.М. Особенности накопления флавоноидов в полынях лесостепной зоны Западной Сибири : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2007. 15 с.



УДК 641:615.33.001.891

## ПРОБОПОДГОТОВКА QuEChERS ПРИ ОДНОВРЕМЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ АНТИБИОТИКОВ ХИНОЛОНОВОГО РЯДА И ХЛОРАМФИНЕКОЛА В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ МЕТОДОМ ВЭЖХ-ДМД



Н. М. Волкова<sup>1</sup>, В. Г. Амелин<sup>2</sup>, А. В. Третьяков<sup>1</sup>,  
О. И. Абраменкова<sup>1</sup>, А. А. Тимофеев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»,  
Владимир, мкр. Юрьеvec

<sup>2</sup>Владимирский государственный университет  
E-mail: amelinvg@mail.ru

Предложен способ одновременного определения 6 антибиотиков хинолонового ряда и хлорамфеникола в пищевых продуктах методом ВЭЖХ с диодноматричным детектированием: энрофлоксацина, данофлоксацина, ломефлоксацина, энрофлоксацина, дифлоксацина, оксолиновой кислоты и хлорамфеникола с использованием упрощенной, быстрой и безопасной пробоподготовки QuEChERS. Пределы обнаружения антибиотиков при массе навески 5 г составили 0,002–0,04 мг/кг. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0,09. Продолжительность анализа составляет около 1 ч.

**Ключевые слова:** антибиотики хинолонового ряда, хлорамфеникол пищевые продукты, ВЭЖХ-ДМД.

### QuEChERS Sample Preparation in Simultaneous Determination of Residual Amounts of Antibiotics Quinolone Series and Chloramphenicol in Food by HPLC-DAD

N. M. Volkova, V. G. Amelin A. V. Tretyakov,  
O. I. Abramenkova, A. A. Timofeev

A new method has been developed which allows for the simultaneous determination of six quinolone and chloramphenicol antibiotics residues in food by HPLC (High-performance liquid chromatography) with diode-array detection of enoxacin, danofloxacin, lomefloxacin, enrofloxacin, oxolinic acid, difloxacin and chloramphenicol. The samples were prepared using simplified, quick and safe sample preparation QuEChERS. The detection limits of quinolones and chloramphenicol with sample weight of 5 g were 0,002–0,04 mg/kg. The relative standard deviations analysis results is less than 0,09. The analysis time is about 1 hour.

**Key words:** antibiotics quinolone series, chloramphenicol, food, HPLC-DAD.

Антибиотики хинолонового ряда – энноксацин (ЭНО), данофлоксацин (ДАНО), ломефлоксацин (ЛОМЕ), энрофлоксацин (ЭНРО), дифлоксацин (ДИ), оксолиновая кислота (ОКС) и хлорамфеникол (ХЛФ) часто используются в ветеринарии и животноводстве, поэтому остаточные их количества могут встречаться в пищевых продуктах животного происхождения [1]. Употребление в

пищу продуктов, содержащих остаточные количества антибиотиков, негативно сказывается на организме человека, в связи с этим их содержание нормируется. Согласно Приложению № 21 к СанПиН 2.3.2.1078-01 максимально допустимые уровни остатков фторхинолонов в пищевых продуктах (молоко, печень, почки) не должны превышать 0,1–0,3 мг/кг, дифлоксацина 0,4 мг/кг в мясе и 0,1 мг/кг в жире, данофлоксацина 0,03; 0,1; 0,05 мг/кг в молоке, мясе и жире соответственно, оксолиновой кислоты – 0,1 мг/кг в мясе и 0,05 мг/кг в жире, хлорамфеникола (ХЛФ) – 0,01 мг/кг во всех продуктах животного происхождения. В РФ отсутствуют нормативные документы по одновременному количественному определению остатков хинолонов и хлорамфеникола в пищевых продуктах.

Предложен способ определения пяти хинолонов (марбофлоксацина, дифлоксацина, норфлоксацина, энрофлоксацина и ципрофлоксацина) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодноматричным детектором (ВЭЖХ-ДМД) в мясе и яйцах. Извлечение антибиотиков из проб проводили ацетонитрилом, очистку экстракта и концентрирование – с использованием твердофазной экстракции [2]. Предложено также определение 13 хинолонов в кормах методом ВЭЖХ с ДМД и флуориметрическим детектором и пробоподготовкой с использованием твердофазной экстракции [3]. Однако данные способы длительны и требуют использования достаточно больших количеств токсичных органических растворителей для извлечения и концентрирования хинолонов.

Предложены способы определения ХЛФ в продуктах питания, в том числе животного происхождения, методами ВЭЖХ [4], ЖХ-МС/МС, ГХ-МС [5] с применением трудоёмкой и длитель-



ной жидкостно-жидкостной экстракции, а также ЖХ-МС с пробоподготовкой QuEChERS [6]. Однако данные методики не экспрессны и подходят для определения только одного антибиотика.

В данной работе предложен быстрый, безопасный и простой способ одновременного извлечения шести хинолонов, хлорамфеникола и их определения в пищевых продуктах методом ВЭЖХ-ДМД.

### Материалы и методы

**Аппаратура.** В работе использовали жидкостной хроматограф с диодноматричным детектором Flexar DAD (Perkin-Elmer, США). Разделение проводили на колонке (150×3,9 мм) XTerra™ RP<sub>18</sub> (3 мкм) (Waters, США) в режиме градиентного элюирования подвижной фазы.

**Реактивы.** Использовали стандартные образцы антибиотиков: энноксацин, ломефлоксацин, энрофлоксацин (Sigma, Китай), данофлоксацин, оксолиновая кислота (Dr. Ehrenstorfer GmbH, Германия), дифлоксацин (Fluka, Германия), хлорамфеникол (Sigma, Германия). Стандартные растворы с концентрацией 10 мкг/мл готовили в ацетонитриле. Использовали ацетонитрил для хроматографии (Merck, Германия), сульфат магния, х.ч., хлорид натрия, х.ч., натрий лимоннокислый тризамещенный двойной гидрат, х.ч., натрий лимоннокислый двузамещенный полуторный гидрат, х.ч., сорбенты Bondesil-PSA (Varian, США) и C18 (Supelco, США), 1-гептасульфоновой кислоты натриевую соль (Dudley Chemical, Россия), калия дигидрофосфат (Merck, Германия).

**Пробоподготовка.** Пробоподготовку осуществляли по методу QuEChERS [7]. Исследуемые пробы измельчали с помощью миксера. В центрифужную пробирку емкостью 50 мл вносили навеску 5,0 г, добавляли 10 мл ацетонитрила, 0,1 мл конц. муравьиной кислоты, закрывали пробирку и энергично взбалтывали в течение одной минуты. Затем вносили смесь 4,0 г безводного сульфата магния, 1,0 г хлорида натрия, 1,0 г натрия лимоннокислого тризамещенного двойного гидрата и 0,5 г натрия лимоннокислого двузамещенного полуторного гидрата. После внесения солей взбалтывали в течение одной минуты (во избежание образования комков) и центрифугировали в течение 5 мин при 4500 об/мин, отбирали 5 мл верхней части экстракта и переносили в центрифужную пробирку емкостью 15 мл, которая содержала смесь сорбента Bondesil-PSA (0,15 г), C18 (0,15 г) и

сульфата магния (0,9 г). Пробирку энергично встряхивали в течение одной минуты и центрифугировали 5 мин при 2700 об/мин, отбирали 1 мл экстракта в микрофлакон, упаривали в токе азота досуха, остаток растворяли в 100 мкл подвижной фазы и хроматографировали.

Для характеристики эффективности пробоподготовки использовали степень извлечения:

$$R = \frac{c_k}{c_0} \cdot 100,$$

где  $c_k$  и  $c_0$  – концентрация аналита, полученная в ходе анализа и начальная концентрация аналита, введенная в пробу.

### Результаты и их обсуждение

Фторхинолоны, хинолоны и хлорамфеникол обладают кислотным характером, поэтому в подвижную фазу вводили фосфорную кислоту и разделение проводили в присутствии мицелл гептасульфоната натрия. Варьировали содержание кислоты в подвижной фазе, концентрацию ПАВ и создавали градиент для лучшего разделения хинолонов и ХЛФ. На рис. 1 представлена хроматограмма смеси 6 хинолонов и ХЛФ, полученная в оптимальных условиях:  $t = 35^\circ\text{C}$ ; градиент: фосфатный буфер (20мМ дигидрофосфат калия, 1,2 г/л 1-гептасульфонат натрия, фосфорная кислота до pH=2.2) – ацетонитрил (об. %): 20 (0–3 мин), 17 (3–7 мин), 40 (7–10 мин) и 20 (10–15 мин). Расход подвижной фазы 1,0 мл/мин, длина волны детектирования 280 нм, объем вводимой пробы 10 мкл.

В настоящее время для быстрого извлечения пестицидов и очистки экстрактов применяют способ дисперсионной твердофазной экстракции **QuEChERS** (**Q**uick, **E**asy, **C**heap, **E**ffective, **R**ugged and **S**afe – быстрый, простой, дешевый, эффективный, точный и надежный) [7]. Экстракцию целевых компонентов проводят ацетонитрилом в присутствии буферирующих солей. Очистку экстрактов от липидов, жиров и белков осуществляют насыпными сорбентами Bondesil-PSA, C<sub>18</sub>, графитированной сажей, ионообменными смолами и их комбинациями.

В данной работе мы применили этот прием для извлечения остаточных количеств антибиотиков из пищевых продуктов и очистки их экстрактов. Выбор соотношения сульфата магния, адсорбентов Bondesil-PSA и C18 осуществляли по максимальным значениям степеней извлечения хинолонов и ХЛФ из реальных объектов, и они составили на 5 г пробы: сульфата магния – 0,9 г, Bondesil-PSA и C18 по 0,15 г.

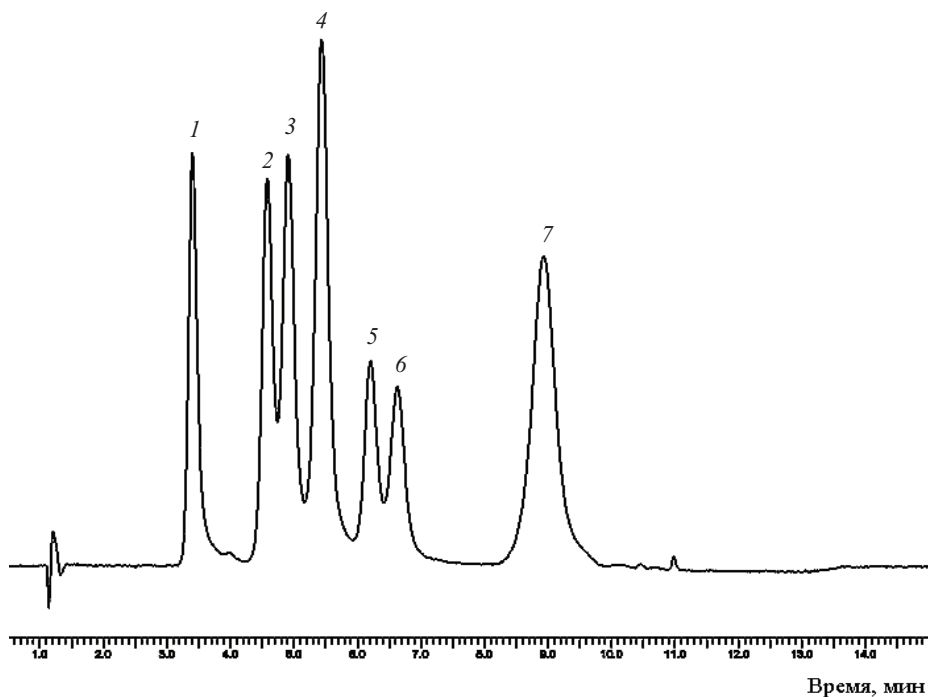


Рис. 1. Хроматограмма смеси растворов антибиотиков (по 10 мкг/мл): 1 – ЭНО, 2 – ДАНО, 3 – ЛОМЕ, 4 – ЭНРО, 5 – ОКС, 6 – ХЛФ, 7 – ДИ

В табл. 1 показаны степени извлечения антибиотиков из различных матриц при использовании QuEChERS в оптимальных условиях. Степень извлечения в зависимости от матрицы колеблется от 62 до 100 %.

Установлено, что на хроматографические пики хинолонов и ХЛФ (в выбранных условиях пробоподготовки и очистки экстракта) не влияют компоненты матриц пищевых продуктов и кормов (белки, жиры, липиды и пр.) (рис. 2).

Таблица 1

Степени извлечения антибиотиков, % (в скобках указано относительное стандартное отклонение –  $s_r$ ) из различных матриц при использовании пробоподготовки QuEChERS ( $n = 3, P = 95$ )

Матрица	ЭНО	ДАНО	ЛОМЕ	ЭНРО	ОКС	ДИ	ХЛФ
Мясо курицы	95 ± 1 (0,01)	62 ± 7 (0,12)	73 ± 4 (0,06)	87 ± 6 (0,07)	93 ± 7 (0,08)	96 ± 4 (0,04)	–
Свинина	77 ± 9 (0,12)	53 ± 5 (0,09)	69 ± 6 (0,09)	86 ± 6 (0,07)	96 ± 5 (0,05)	99 ± 2 (0,02)	–
Говядина	91 ± 10 (0,10)	69 ± 5 (0,05)	82 ± 5 (0,06)	95 ± 3 (0,03)	94 ± 5 (0,06)	97 ± 3 (0,03)	–
Сыр	93 ± 2 (0,02)	71 ± 5 (0,05)	85 ± 6 (0,07)	85 ± 3 (0,04)	69 ± 1 (0,02)	99 ± 1 (0,01)	–
Ветчина	68 ± 4 (0,05)	77 ± 2 (0,03)	69 ± 1 (0,02)	95 ± 5 (0,05)	70 ± 7 (0,10)	99 ± 1 (0,01)	–
Печень говяжья	72 ± 2 (0,03)	65 ± 5 (0,08)	65 ± 4 (0,06)	86 ± 2 (0,02)	64 ± 4 (0,06)	100 ± 0,7 (0,01)	–
Молоко	85 ± 3 (0,04)	98 ± 3 (0,04)	83 ± 3 (0,04)	93 ± 2 (0,03)	68 ± 3 (0,05)	100 ± 0,7 (0,01)	–
Мед	99 ± 1 (0,01)	65 ± 5 (0,08)	83 ± 5 (0,06)	99 ± 4 (0,04)	75 ± 3 (0,04)	99 ± 1 (0,01)	–
Яйца	91 ± 1 (0,01)	76 ± 2 (0,03)	85 ± 1 (0,01)	96 ± 5 (0,06)	96 ± 7 (0,07)	99 ± 1 (0,01)	62 ± 5 (0,06)

Примечание. «–» Не исследовалось.



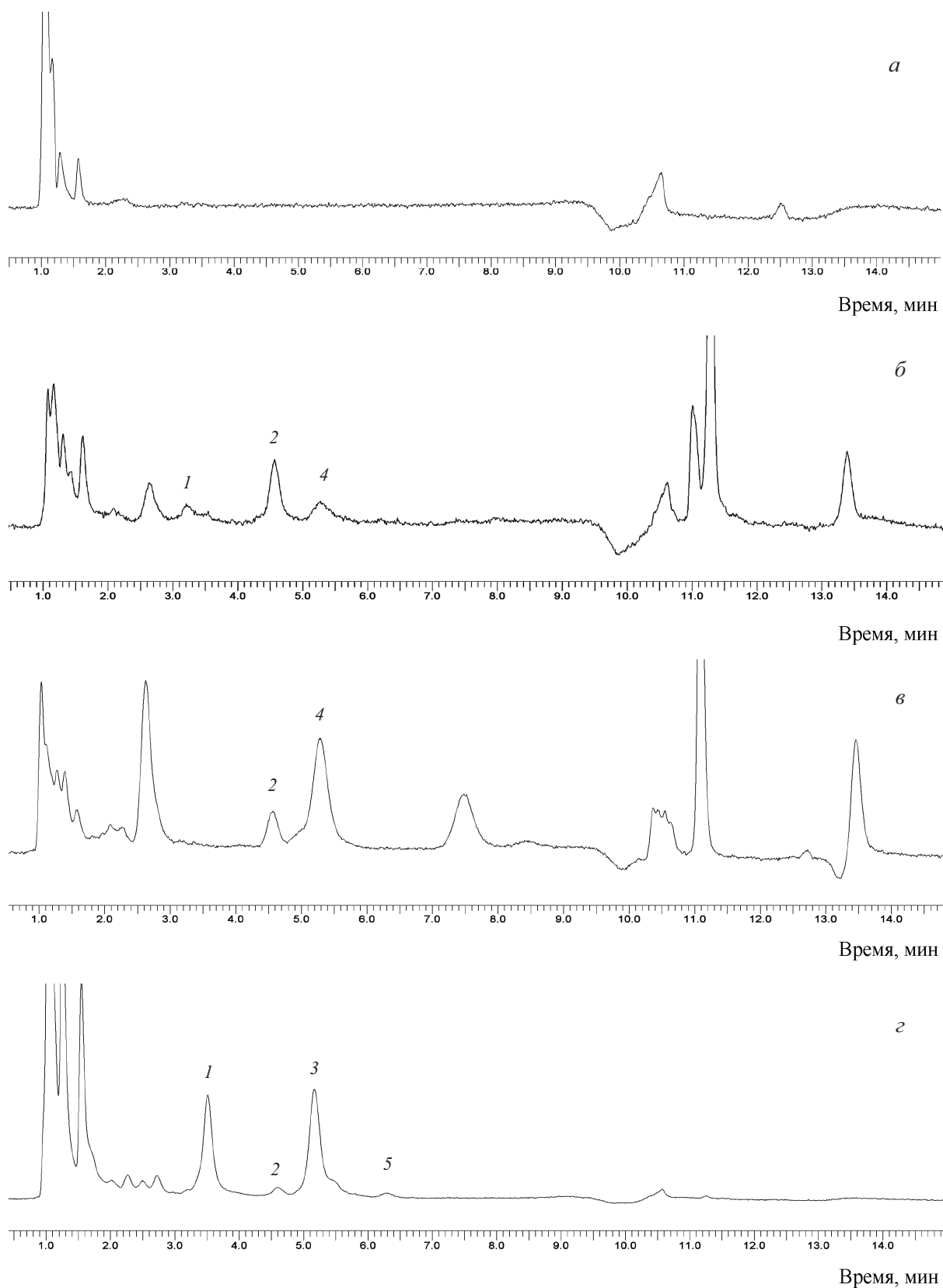


Рис. 2. Хроматограммы экстрактов проб: *a* – говядина, *б* – корм для рыб, *в* – пельмени, *г* – сельдь; 1 – ЭНО, 2 – ДАНО, 3 – ЛОМЕ, 4 – ЭНРО, 5 – ОКС



В табл. 2 представлены аналитические характеристики методики определения хинолонов и ХЛФ. Градуировочные характеристики линейны в диапазоне 0,05–10 мкг/мл ( $R^2 \geq 0,99$ ) для каждого антибиотика. Пределы обнаружения (ПО) расчи-

таны при отношении сигнал/шум = 3, а пределы определения (ПКО) – при отношении сигнал/шум = 10. Пределы определения антибиотиков в пробах с учетом навески и концентрирования экстракта варьируются от 0,008 до 0,12 мг/кг.

Таблица 2

**Аналитические характеристики методики определения фторхинолонов, оксолиновой кислоты и ХЛФ при диапазоне линейности градуировочной характеристики 0,05–10 мкг/мл ( $n = 3, P = 0,95$ )**

Антибиотик	$t_R$ , мин	Уравнение градуировочной характеристики	$R^2$	ПО, мкг/мл	ПКО, мкг/мл	ПО при навеске 5 г, мг/кг	ПКО при навеске 5 г, мг/кг
ЭНО	3,38	$y = -5992+40106x$	0,9928	0,02	0,05	0,004	0,01
ДАНО	4,53	$y = -1357+42621x$	0,9904	0,01	0,04	0,002	0,008
ЛОМЕ	4,87	$y = -9619+60674x$	0,9983	0,04	0,1	0,008	0,02
ЭНРО	5,37	$y = -15848+89105x$	0,9974	0,01	0,04	0,002	0,008
ОКС	6,26	$y = -6780+32167x$	0,9946	0,2	0,5	0,04	0,10
ХЛФ	6,65	$y = -5992+40105x$	0,9928	0,1	0,5	0,02	0,1
ДИ	8,86	$y = -24759+66095x$	0,9915	0,2	0,6	0,04	0,12

Результаты анализа продуктов питания и кормов показывают достаточно высокую точность разработанной методики, относительное стандартное отклонение результатов анализа не

превышает 0,09 (см. табл. 1, 3). В большинстве проанализированных продуктов установлено превышение остаточных количеств фторхинолонов.

Таблица 3

**Результаты определения антибиотиков, мг/кг (в скобках указано относительное стандартное отклонение –  $s_r$ ) в некоторых реальных объектах ( $n = 3, P = 95$ )**

Матрица	ЭНО	ДАНО	ЛОМЕ	ЭНРО	ОКС	ХЛФ	ДИ
Мясо курицы	–*	–	–	0,018±0,005 (0,08)	–	–	–
Свинина	–	–	–	–	–	–	–
Молоко	–	0,044±0,003 (0,09)	–	–	–	–	–
Корм для рыб	0,13±0,02 (0,06)	0,19±0,03 (0,05)	–	0,12±0,03 (0,07)	–	–	–
Сельдь копченая	1,84±0,07 (0,08)	0,14±0,01 (0,07)	1,44±0,06 (0,09)	–	0,21±0,04 (0,08)	–	–
Говядина	–	–	–	–	–	–	–
Пельмени	–	0,22±0,03 (0,07)	–	0,51±0,04 (0,04)	–	–	–
Яйца	–	–	–	–	–	–	–

Примечание. \* – Не обнаружено.

Разработана методика одновременного определения шести хинолонов и ХЛФ в пищевых продуктах методом ВЭЖХ-ДМД. Предложено использовать для извлечения антибиотиков из

пищевых продуктов быстрый и безопасный прием пробоподготовки QuEChERS. Показана эффективность анализа реальных объектов с применением предлагаемой методики.



## Список литературы

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна. 2005. С. 842–850.
2. Gigoso P. G., Revesado P. R., Cadahia O. et al. Determination of quinolones in animal tissues and eggs by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection // J. Chromatogr. A. 2000. Vol. 871. P. 31–36.
3. Pecorelli I., Galarini R., Bibi R. et al. Simultaneous determination of 13 quinolones from feeds using accelerated solvent extraction and liquid chromatography // Anal. Chim. Acta. 2003. Vol. 483. P. 81–89.
4. Juan Han, Yun Wang, Cui-Lan Yu et al. Extraction and determination of chloramphenicol in feed water, milk, and honey samples using an ionic liquid/sodium citrate aqueous two-phase system coupled with high-performance liquid chromatography // Anal. Bioanal. Chem. 2011. Vol. 399. P. 1295–1304.
5. Gantverg A., Shishani I., Hoffman M. Determination of chloramphenicol in animal tissues and urine Liquid chromatography-tandem mass spectrometry versus gas chromatography-mass spectrometry // Anal. Chim. Acta. 2003. Vol. 483. P. 125–135.
6. Pan C., Zhang H., Chen S. et al. Determination of chloramphenicol residues in honey by monolithic column liquid chromatography-mass spectrometry after use QuEChERS clean-up // Acta Chromatogr. 2006. № 17. P. 320–327.
7. Anastassiades M., Lehoutay S. J., Stajnbaher D., Schenck F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce // J. AOAC Inter. 2003. Vol. 86, № 2. P. 412–431.

УДК 542.87

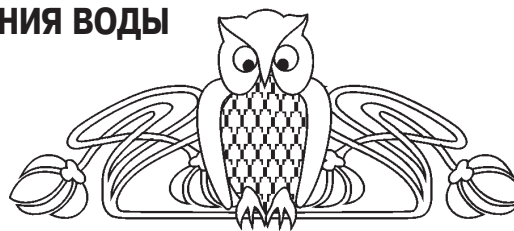
## ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЗАРАЖЕНИЯ ВОДЫ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

А. В. Голец<sup>1</sup>, Е. В. Скиданов<sup>1</sup>, И. А. Казаринов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ООО НПП «ЛИССКОН», Саратов

<sup>2</sup>Саратовский государственный университет

E-mail: ag707@inbox.ru



Целью настоящей работы являлось установление корреляции между количеством бактерий в инфицированных водных средах и концентрацией иодид-ионов, образующихся в воде, обеззараженной при помощи бактерицида на основе четвертичных аммониевых оснований, насыщенных иодом.

Показана возможность применения таких бактерицидов для экспресс-определения (не более 5 мин) бактериального заражения воды методом прямой потенциометрии с использованием иодид-селективного электрода.

Разработана методика определения бактериального заражения воды с помощью бактерицидного датчика и потенциометрической ячейки. Установлена количественная зависимость потенциала иодид-селективного электрода от концентрации бактерий *Escherichia coli* в водных средах в стационарной и проточной ячейках.

**Ключевые слова:** потенциометрия, иодид-селективный электрод, бактерицид, бактерии *Escherichia coli*.

### Potentiometric Analysis of Bacterial Water Contamination

A. V. Golets, E. V. Skidanov, I. A. Kazarinov

The purpose of the present work was to find a correlation between the quantity of bacteria in infected aqueous media and the concentration of iodide ions formed in water disinfected by means of a bactericide on the basis of iodine-saturated quaternary ammonium bases.

The possibility of application of such bactericides for rapid analysis (no longer than 5 min) of bacterial water contamination by direct potentiometry with the usage of an iodide-selective electrode is shown. An analysis technique for bacterial water contamination by means of a bactericidal sensor and a potentiometric cell has been developed. A quantitative dependence of the iodide-selective electrode potential on the *Escherichia coli* bacteria concentration in aqueous media in stationary and flowing cells has been established.

**Key words:** potentiometry, iodide-selective electrode, bactericide, *Escherichia coli* bacteria.

Одной из главных проблем современной цивилизации является ограниченный ресурс питьевой воды. Многие открытые водоемы с питьевой водой, как правило, подвергнуты или могут быть подвергнуты бактериальному заражению. В связи с этим существует проблема создания эффективных бактерицидных средств, применяемых для дезинфекции питьевой воды и различных водных растворов. В настоящее время общепринятыми для обеззараживания водных растворов являются способы, связанные с добавлением в зараженную среду свободных окислителей, например Cl<sub>2</sub>, Br<sub>2</sub>, I<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, и др. [1, 2]. Обеззараживающее воздействие при этом достигается прямым окислением



присутствующих в воде или водных растворах микроорганизмов, приводящем к их дезактивации. Недостатком данных способов является токсичность получаемых продуктов и высокая стоимость технологических процессов.

Сотрудниками ООО НПП «ЛИССКОН» был предложен способ приготовления бактерицида [3] на основе ионообменной смолы, содержащей в активных центрах четвертичные атомы азота, работающего по принципу «дезинфекция по сигналу». При взаимодействии инфицированного раствора с бактерицидом последний порционно выделяет положительно заряженный йод-радикал, который нейтрализует отрицательный заряд клеток, приводя к их гибели. При этом в водной среде накапливается пропорциональное количество иодид-ионов.

Целью настоящей работы являлось установление корреляции между количеством бактерий в инфицированных водных средах и концентрацией иодид-ионов, образующихся в обеззараженной при помощи бактерицида воде.

#### Материалы и методы

Объектами данного исследования являлись водные бактериальные суспензии *Escherichia coli* (*E. coli*). Результаты проводимых исследований можно распространить на все возможные типы микроорганизмов, которые жизнеспособны в водной среде, так как *E. coli* является своеобразным индикатором микробиологического заражения воды [4]. Использовали штамм К-12 *E. coli* из набора Фредерика музея микроорганизмов кафедры микробиологии и физиологии растений Саратовского госуниверситета. Бактерии культивировали на поверхности плотной питательной среды общего назначения (ГРМ-агар). Исследуемый штамм засеивали в пробирку со скошенным агаром и инкубировали в течение 24 ч перед началом эксперимента при температуре 37 °С. При проведении исследований очень важным фактором являлся точный учет микроорганизмов в единице объема, поэтому перед инфицированием водных сред проводилось определение количества клеток *E. coli* методом мембранных фильтров [5].

Степень микробиологической очистки воды определялась методом контрольного посева с последующим подсчетом образующихся колоний.

Инфицированные водные среды с точным содержанием микроорганизмов *E. coli* в единице объема пропускали через бактерицидные фильтры.

В данной работе использовались бактерицид производства ООО НПП «ЛИССКОН» [3], обладающий повышенной эффективностью за счет специальной обработки ионообменной смолы иодсодержащими растворами.

Поскольку результаты данной работы могут послужить основой для определения бактериального заражения воды в производственных масштабах, то в качестве метода исследования был выбран метод прямой потенциометрии с применением иодид-селективных электродов, который отличается своей экспрессностью, простотой в исполнении, может осуществляться в проточных условиях.

Потенциометрические измерения выполняли на цифровом иономере И-500 «Аквилон», совместимом с ПК. Рабочим электродом служил иодид-селективный электрод «Элит-281», являющийся первичным преобразователем активности иодид-ионов в электродвижущую силу. В качестве электрода сравнения использовался хлоридсеребряный электрод производства «Аквилон», входящий в комплект иономера И-500.

Электрический контакт между рабочим электродом и электродом сравнения осуществлялся через электролитический мостик, заполненный гелем из агар-агара, приготовленным на растворе БРОИС для конкретного электрода.

Калибровку иодид-селективного электрода в единицах концентрации проводили по стандартным растворам с добавлением буферного раствора для регулирования общей ионной силы (БРОИС) в порядке возрастания концентрации стандартных растворов. Раствором БРОИС являлся раствор  $\text{NaNO}_3$  концентрации 0,1 моль/л. Соотношение стандартного раствора и раствора БРОИС – 1:10. Применение этих растворов позволяет проводить измерения при постоянной ионной силе равной 0,99. При этом исключается влияние коэффициента активности, что упрощает переход от активности к концентрации.

В ходе проведения потенциометрических измерений растворы перемешивали с помощью магнитной мешалки.

В анализе применялись растворы из реагентов квалификации ч.д.а.

При измерениях концентрации исследуемых ионов равновесие устанавливалось в течение 1–5 мин.

Стандартные растворы приготавливались на дистиллированной воде и на водопроводной воде, очищенной от соединений хлора, чтобы оценить



степень влияния посторонних ионов. Значения потенциалов рассчитывались не менее чем по трем результатам измерений. Линейная зависимость потенциала от концентрации иодид-ионов в растворе с наклоном, близким к теоретическому, сохраняется во всем диапазоне концентраций ( $10^{-1} \div 10^{-6}$  моль/дм<sup>3</sup>). Калибровочные графики иодид-селективного электрода, построенные для стандартных растворов на дистиллированной и водопроводной воде, совпадают с учетом погрешности измерений, т. е. качество воды не влияет на работу электрода.

### Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены зависимости потенциала иодид-селективного электрода от концентрации бактерий в зараженной воде, полученные при измерениях в стационарной ячейке. Эти зависимости в полулогарифмических координатах хорошо аппроксимируются прямыми линиями в диапазонах концентраций 10–1000 и 100–100000 м.т./мл. Поэтому их можно использовать как калибровочные графики при определении точного количества бактерий в неизвестных водных средах.

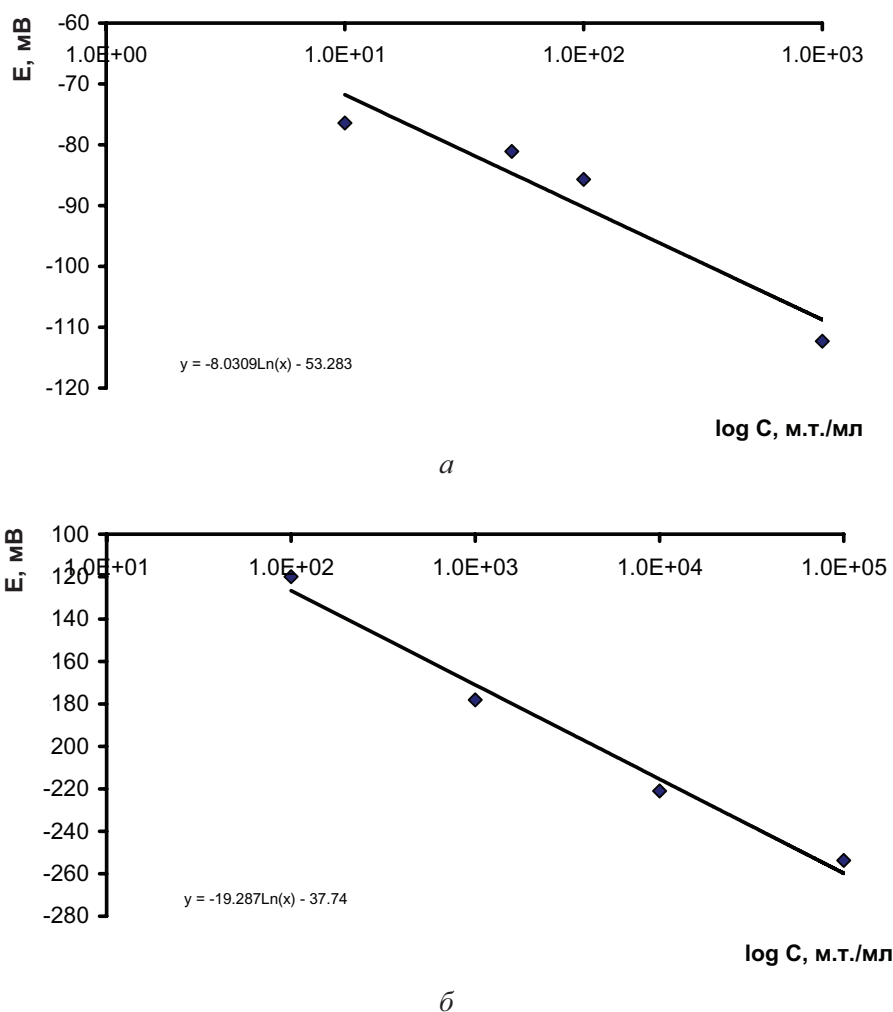


Рис. 1. Зависимость потенциала иодид-селективного электрода от концентрации бактерий *E.coli* в воде, полученная при пропускании инфицированной воды через бактерицид в стационарной ячейке: *a* – в диапазоне концентраций бактерий 10–10<sup>3</sup> м.т./мл; *б* – в диапазоне концентраций бактерий 10<sup>2</sup>–10<sup>5</sup> м.т./мл

Для оценки возможности данного метода количественного определения микробиологического заражения воды в производственных условиях был создан макет ячейки для потенциометрического

контроля концентрации иодид-ионов в проточных условиях, схема которой приведена на рис. 2. Дальнейшие потенциометрические исследования проводились с использованием этой ячейки.

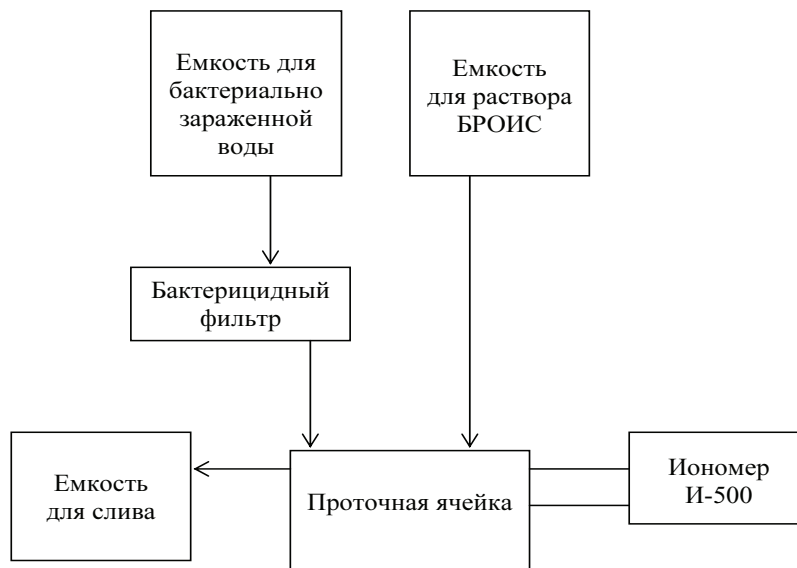


Рис. 2. Схема установки для потенциометрического определения иодид-ионов в проточных условиях

Перед началом исследований с использованием проточной системы была поставлена задача воспроизвести в ней калибровку иодид-селективного электрода (ИСЭ). На рис. 3 представлена

зависимость потенциала иодид-селективного электрода от концентрации иодид-ионов при пропускании через проточную ячейку стандартных растворов иодида калия.

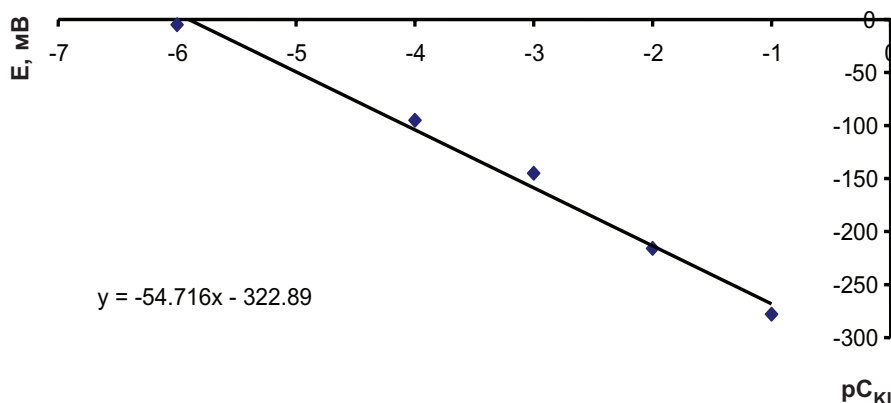


Рис. 3. Калибровочный график иодид-селективного электрода, полученный при пропускании стандартных растворов KI (с добавлением БРОИС) через проточную ячейку

Наклон полученной зависимости близок к теоретическому. Однако значения потенциалов ИСЭ при пропускании через проточную ячейку несколько отличаются от аналогичных значений, полученных в стационарных условиях. Возможно, это связано с нестационарностью проточной системы, в которой могут возникать концентрационные флуктуации и потенциал течения [6].

Зависимости потенциала иодид-селективного электрода от концентрации бактерий *E. coli*, полученные в проточной ячейке, представлены на рис. 4. Они также хорошо аппроксимируются

прямыми линиями в диапазонах концентраций 5–1000 и 1000–1000000 м.г./мл, но несколько отличными от аналогичных зависимостей, полученными в стационарных условиях.

Таким образом, установлена количественная корреляция взаимосвязи между изменением потенциала рабочего иодид-селективного электрода и концентрацией бактерий в проточной системе. Значение потенциала иодид-селективного электрода устанавливается в течение 1–2 мин и не изменяется во времени при протекании инфицированной воды через ячейку. Как видно, данная

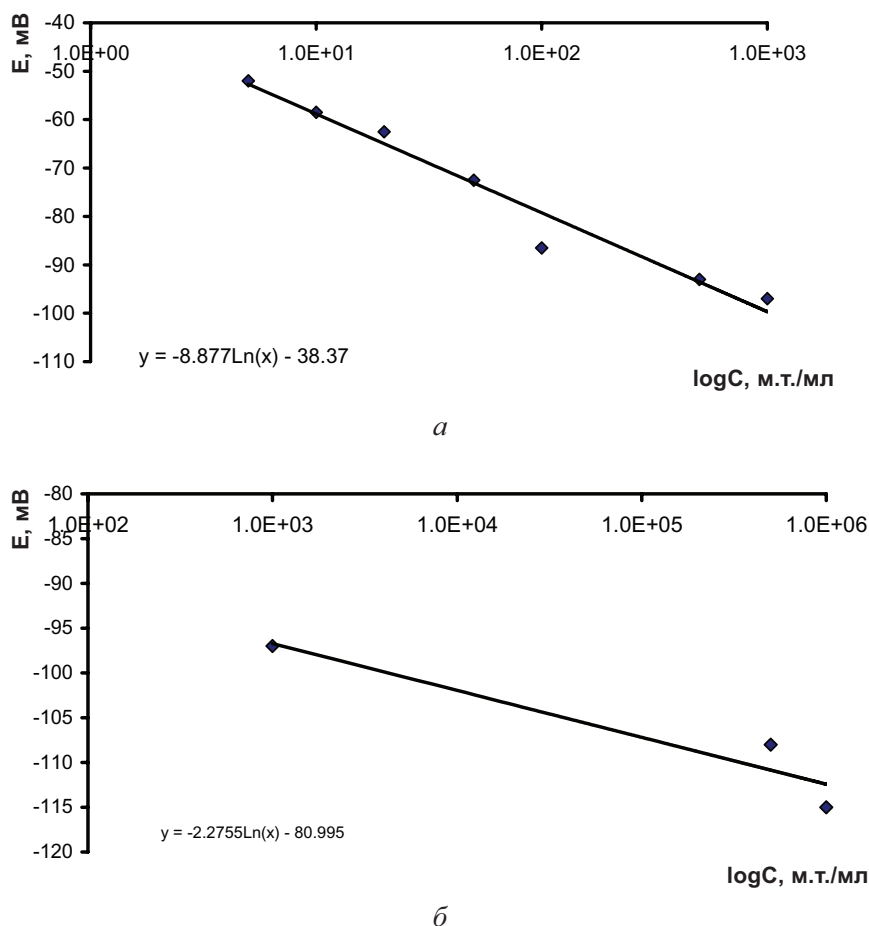


Рис. 4. Зависимость потенциала иодид-селективного электрода от концентрации бактерий *E.coli*, полученная при пропускании инфицированной воды через бактерицид, в проточной ячейке: *а* – диапазон концентраций бактерий  $5-10^3$  м.т./мл; *б* – диапазон концентраций бактерий  $10^3-10^6$  м.т./мл

система обладает хорошей чувствительностью, т.е. позволяет вести количественное определение бактериального заражения воды вплоть до значений, соответствующих стандартам по питьевой воде.

#### Выводы

1. Проведено изучение свойств бактерицидов на основе четвертичных аммониевых оснований, насыщенных иодом, предназначенных для обеззараживания воды. Установлено, что после взаимодействия таких бактерицидов с инфицированными водными растворами происходит полное их микробиологическое очищение.

2. Показана возможность применения таких бактерицидов для экспресс-определения (не более 5 мин) бактериального заражения воды методом прямой потенциометрии с использованием иодид-селективного электрода.

3. Разработана методика определения бактериального заражения воды с помощью бактерицидного датчика и потенциометрической

ячейки. Установлена количественная зависимость потенциала иодид-селективного электрода от концентрации бактерий *E.coli* в водных средах в стационарной и проточной ячейках.

#### Список литературы

1. Технические записки по проблемам воды. М. : Стройиздат, 1983. Т. 1. 429 с.
2. Howard B., Hollowell J. Use of iodine for water disinfection: iodine toxicity and maximum recommended dose // Environ. Health Perspect. 2000. Vol. 108, № 8. P. 679–684.
3. Пат. 2213063 РФ, МПК C02F1/50, A61L2/16, A01N33/14, C02F103:04. Способ приготовления бактерицида / Голец А. В., Скиданов Е. В. ; опубл. 27.09.03.
4. Мидгли Д., Торренс К. Потенциометрический анализ воды. М. : Мир, 1980. 400 с.
5. Непрусов А. И. Практикум по микробиологии. М. : АCADEMA, 2005. 603 с.
6. Van den Winkel P., Meterns J., Massart D. L. Organic and inorganic chemistry of iodine oxides // Anal. Chem. 1974. Vol. 46. P. 1765–1768.



## БИОЛОГИЯ

УДК 581.9: 502.1

### МАТЕРИАЛЫ К ТРЕТЬЕМУ ИЗДАНИЮ КРАСНОЙ КНИГИ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

О. Н. Давиденко, С. А. Невский

Саратовский государственный университет  
E-mail: biosovet@sgu.ru

В статье приводятся новые данные о распространении на территории Саратовской области шести редких видов растений, занесенных во второе издание Красной книги. Еще восемь видов рекомендованы для включения в третье издание Красной книги. По каждому виду приведены сведения о его местообитании и состоянии ценопопуляций.

**Ключевые слова:** Красная книга, редкие виды растений, Саратовская область.

#### Materials to the Third Edition of the Red Book of the Saratov Region

O. N. Davidenko, S. A. Nevskiy

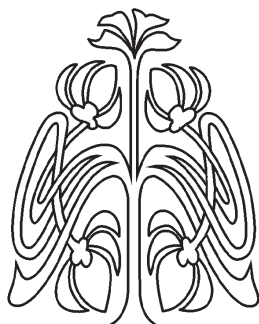
In the article the new data about spreading of 6 rare plants species in Saratov region are performed. Some more 8 species are recommended to the inclusion in the third edition red book of Saratov region. The information about habitat and population condition is performed.

**Key words:** Red book, rare plants species, Saratov region.

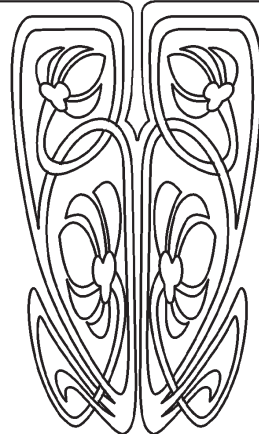
Второе издание Красной книги Саратовской области [1] включает 285 видов высших растений, нуждающихся в охране на региональном уровне. Необходимым условием для научно обоснованного ведения материалов по Красной книге, решения вопроса о выборе статуса для того или иного вида, пересмотра списков нуждающихся в охране видов является постоянная инвентаризация флоры. В связи с этим особую ценность представляют данные полевых исследований, проведенных в последние годы. Опыт многих ученых показывает, что работа по инвентаризации списков должна вестись постоянно на основании преимущественно полевых исследований [2–4]. На территории Поволжья такие работы проводятся многими исследователями, внося коррективы в соответствующие Красные книги конкретных областей [5–9].

За годы, прошедшие с момента выхода Красной книги Саратовской области, накоплен обширный материал по распространению и состоянию популяций нуждающихся в охране видов растений. Назрела необходимость пересмотра их перечня, а в ряде случаев – статуса редкости.

В результате комплексного изучения растительного покрова Саратовской области в рамках долговременного мониторинга растительности в 2008–2012 гг. были выявлены новые местонахождения видов сосудистых растений из списка региональной Красной книги и видов, рекомендованных для внесения в этот список [10–16]. Исследованиями охвачены 28 районов Саратовской области. Изучены ценопопуляций 35 редких видов растений. В данной статье приведены наиболее значимые результаты по ряду видов. Степень



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ







новизны находок определялась по наличию гербарных сборов из обследованных пунктов, ранее сделанных другими коллекторами. Собраны некоторые редкие виды, местонахождения которых были известны по литературным данным, но не подтверждены гербарным материалом [17]. Новые местонахождения видов приведены на рисунке.

**Виды, внесенные во 2-е издание Красной книги, для которых уточнено распространение по территории области или получены новые данные о состоянии ценопопуляций**

**Руппия морская (*Ruppia maritima* L.).** Вид внесен в Красную книгу Саратовской области со статусом 1 (Е) – вид, находящийся под угрозой исчезновения. Меры охраны для вида на территории региона не разработаны [18]. Для Саратовской области до недавнего времени было известно лишь одно местонахождение руппии морской в Краснокутском районе [17, 18]. В августе 2011 г. руппия морская была обнаружена в Озинском районе в водах озера Большой Морец [13]. Руппия морская в озере была отмечена по всей акватории на глубинах 10–40 см (местами до 60 см), где она образовывала практически чистые заросли с проективным покрытием от 20% в самых мелководных частях водоема до 80% на глубинах 25–35 см. Помимо руппии морской в ценозах отмечен рдест гребенчатый (*Potamogeton pectinatus*) с проективным покрытием не более 3%.

**Хвостник обыкновенный (*Hippuris vulgaris* L.)** в настоящее время сведения о распространении хвостника обыкновенного на территории Саратовской области весьма противоречивы. Одни авторы [19] указывают на произрастание вида в двух районах саратовского Правобережья – Воскресенском и Лысогорском. Другие [17] считают, что вид «в настоящее время, по видимому, исчез с территории Саратовской области». В последние годы появились достоверные данные о находке хвостника обыкновенного в Лысогорском районе в окрестностях с. Бутырки [20]. На территории саратовского Заволжья *Hippuris vulgaris* ранее никогда не отмечался.

В мае 2012 г. *Hippuris vulgaris* был обнаружен нами в Озинском районе в озере Мал. Морец. Кроме доминанта *Hippuris vulgaris* в составе фитоценоза отмечены *Ranunculus polyphyllus*, *Potamogeton* sp., *Lemna minor*, *L. triculca*. Проективное покрытие хвостника – до 80%. Численность ценопопуляции – тысячи особей.

На основании имеющихся данных считаем необходимым пересмотреть статус вида в третьем издании Красной книги Саратовской области.

Вместо статуса «редкий вид» рекомендуем присвоить хвостнику обыкновенному статус 1 (Е) – вид, находящийся под угрозой исчезновения.

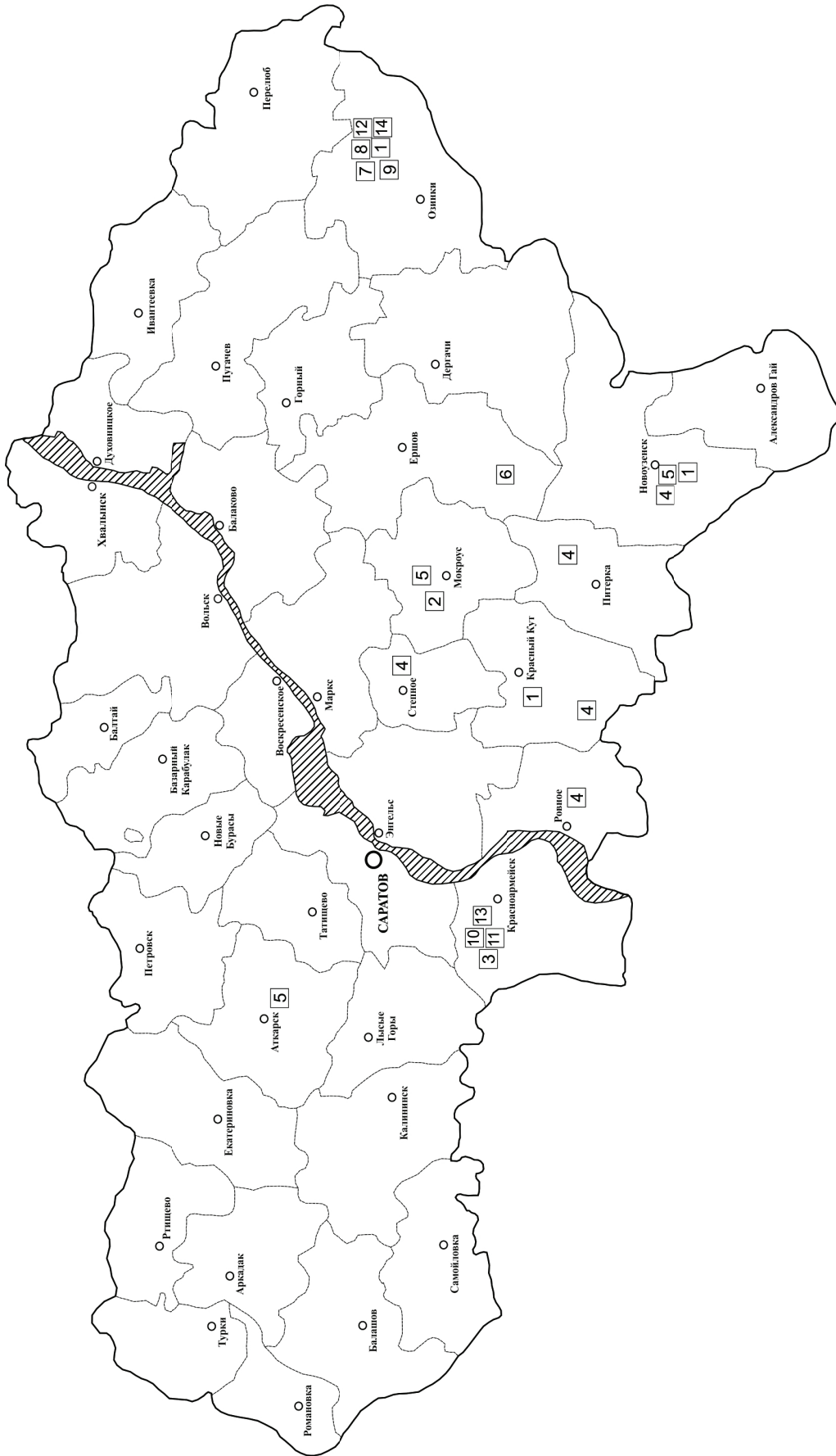
**Астрагал вздутый (*Astragalus physodes* L.)** занесен в Красную книгу Саратовской области со статусом 1(Е) – вид, находящийся под угрозой исчезновения. Относительно распространения вида на территории области имеются противоречивые данные. М. А. Березуцкий и А. В. Панин [21] указывают, что вид встречается в Александрово-Гайском районе. В «Конспекте флоры Саратовской области» [17] указывается на произрастание вида в Краснокутском, Новоузенском и Пугачевском районах.

В начале мая 2009 г. астрагал вздутый был обнаружен авторами в Краснокутском районе, в окрестностях с. Первомайское, в верхней части северо-западного склона в составе типчаково-ковыльного фитоценоза [11]. Астрагал вздутый был представлен единичными экземплярами, растения находились в фазе цветения.

В мае 2012 г. небольшая ценопопуляция *Astragalus physodes* отмечена в Озинском районе в окрестностях пруда Ниж. Девичий в составе перистоковыльного фитоценоза. Численность ценопопуляции (ЦП) астрагала вздутого несколько десятков особей. Все растения плодоносят. В составе фитоценоза отмечено 33 вида растений, из которых наиболее обильны *Stipa pennata*, *Astragalus varius*, *Koeleria cristata*, *Galatella villosa*, *Falcaria vulgaris*.

В Новоузенском районе в 2010 г. было описано две крупные ЦП *Astragalus physodes* в 2,5 км северо-западнее с. Нов. Лапти. Одна ЦП описана на старой залежи. Численность ценопопуляции составляет 30–40 особей, все растения плодоносят. Общее проективное покрытие травостоя 50%, на долю астрагала вздутого приходится до 3%. Наиболее обильны *Artemisia lerchiana*, *Stipa capillata*, *Medicago romanica*, *Koeleria cristata*, *Verbascum phoeniceum*, *Artemisia absinthium*, *Melilotus officinalis*. Всего отмечено 30 видов растений. Травостой мозаичный. Астрагал вздутый был отмечен как на самой залежи, так и на прилегающей старой дороге.

Вторая ЦП описана на средневозрастной залежи. Численность ценопопуляции астрагала вздутого около 100 особей. Все растения плодоносят. Общее проективное покрытие травостоя 30%. В составе фитоценоза отмечено 25 видов, наиболее обильны *Artemisia absinthium*, *Astragalus varius*, *Astragalus testiculatus*. Из охраняемых видов растений, кроме астрагала, отмечен *Iris pumila* с проективным покрытием 0,5%.



Новые местонахождения редких видов растений на территории Саратовской области. Виды: 1 – *Astragalus physodes*, 2 – *Batrachium rionii*, 3 – *Bulbosodium versicolor*, 4 – *Ceratophyllum submersum*, 5 – *Ceratophyllum tanaiticum*, 6 – *Elatine alsinastrum*, 7 – *Halocnemum strobilaceum*, 8 – *Hippuris vulgaris*, 9 – *Hymenolobus procumbens*, 10 – *Linaria incomplete*, 11 – *Rindera tetraspis*, 12 – *Ruppia maritima*, 13 – *Silene cretacea*, 14 – *Suaeda salsa*



**Риндера четырехщитковая (*Rindera tetraspis* Pall.)**. Вид, занесённый в Красную книгу Саратовской области, в которой растение указывается для Аткарского, Вольского, Марксовского и Саратовского районов [22]. Для Аткарского и Вольского районов имеются гербарные сборы соответственно 1971 и 1992 гг. (SARP). Местонахождения в Саратовском и Марксовском районах приводятся по литературным данным. Составителями очерка о риндере пропущены Новоузенский и Красноармейский районы. В Новоузенском районе риндера была найдена Л. А. Смирновым [23] на вершине сыртового останца Меловой Мар. Для Красноармейского района имеются сборы М. А. Березуцкого 1987 г. из окрестностей с. Ахмат (SARAT). До последнего времени имелись только сведения о распространении риндеры в пределах области, а информация о разнообразии сообществ с *Rindera tetraspis*, о состоянии ее популяций отсутствовала. В мае 2009 г. риндера четырехщитковая была обнаружена на северо-западе Красноармейского района на территории урочища «Дальнее» [24].

Популяция занимает площадь около 20 гектаров на южных, юго-западном и юго-восточном склонах. Сообщества с участием риндеры встречаются на верхних, средних и нижних частях склонов, но в основном тяготеют к средним частям. Почва здесь дерновая степная супесчаная с высоким содержанием карбонатов, местами на поверхность выходит мел. Проективное покрытие риндеры в изученных фитоценозах не превышало 5%. Растительность на склонах представлена степными сообществами, среди которых преобладают тырсовые фитоценозы. Во всех сообществах риндера нормально развивается. На изученной территории по совокупности организменных и популяционных показателей состояние всех ценопопуляций риндеры четырехщитковой оценивается как нормальное. Популяции крупные, представлены разновозрастными растениями, имеющими высокую жизненность [10]. Полученные данные могут служить основой долговременного мониторинга состояния ценопопуляций риндеры четырехщитковой.

**Брандушка разноцветная (*Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng.)**. Вид занесен в Красную книгу РСФСР (1988) со статусом «уязвимый вид». В новом перечне объектов растительного мира, занесенных в Красную книгу Российской Федерации [25], категория статуса вида осталась неизменной – 2 (сокращающийся в численности), что говорит о сохраняющейся

на протяжении более чем двух десятилетий негативной тенденции снижения численности брандушки разноцветной на территории Европейской России.

На территории Саратовской области брандушка разноцветная встречается лишь в некоторых районах и охраняется на региональном уровне с категорией и статусом 2 (V) – редкий вид [26]. Основными причинами нестабильного состояния ценопопуляций брандушки на территории области являются нарушение местообитаний в результате распашки степных участков, выпаса скота; непосредственное уничтожение особей брандушки при вытаптывании и выкапывании луковиц для пересадки на приусадебные участки.

Поскольку данный вид подлежит охране и на федеральном уровне, важными являются любые сведения о состоянии его ценопопуляций или сообществ с его участием.

В апреле-июле 2010 г. и в апреле-мае 2011 г. в Красноармейском районе на участке между селами Сплавнуха и Стар.Топовка (участок 1) и на территории урочища «Дальнее» близ с. Некрасово (участок 2) проводились исследования сообществ с участием брандушки разноцветной [15]. Участок 1 частично используется под выпас скота, однако этот фактор носит лишь периодический характер. Ценопопуляция брандушки разноцветной занимает степной участок на склоне к пруду. Сам пруд служит объектом рекреации, в связи с чем антропогенный пресс на территорию в целом увеличивается в летние месяцы. Почва – лугово-черноземная среднемощная. Площадь, занятая ценопопуляцией брандушки разноцветной, составляет около 1600 м<sup>2</sup>. Средняя плотность ЦП составила 21,2 ос/м<sup>2</sup>. Доля генеративных особей – 78%. В составе растительности наибольшие площади заняты разнотравно-типчачковым фитоценозом. Данный фитоценоз достаточно богат в видовом отношении (до 27 видов), однако показатели общего проективного покрытия свидетельствуют о нарушении его структуры. В течение сезона структура сообщества подвергается значительным изменениям, связанным как с естественными этапами развития фитоценоза (увеличение высоты травостоя, проективного покрытия), так и с антропогенным влиянием (увеличение доли сорных видов в составе травостоя, снижение проективного покрытия).

Антропогенное влияние на участок 2 отсутствует. Почва – дерновая степная супесчаная с высоким содержанием карбонатов. Популяция брандушки разноцветной занимает площадь



около 8000 м<sup>2</sup>. Средняя плотность составляет 12,3 ос./м<sup>2</sup>. Наибольшая плотность особей (до 27 ос./м<sup>2</sup>) наблюдается в верхней части склона. Растительность склона неоднородна и представлена тремя сообществами: в верхней части склона типчаковый фитоценоз, в средней части – типчаково-тырсовый, в нижней – разнотравно-типчаковый.

**Льянка неполная (*Linaria incompleta* Kuprian).** Вид внесен в Красную книгу Саратовской области со статусом 3 (R) – редкий вид. Отмечен в Саратовском районе и ряде левобережных районов [27].

В мае 2009 г. данный вид был отмечен в Красноармейском районе на территории урочища «Дальнее». Здесь описано несколько крупных ценопопуляций *Linaria incompleta* в составе типчакового, типчаково-груднищевого, типчаково-тырсового, тырсового и разнотравно-типчакового фитоценозов. Численность ЦП достигает несколько тысяч особей, плотность – до 70 ос./м<sup>2</sup>. Наблюдения за состоянием ЦП в течение ряда лет показали, что они находятся в стабильном состоянии.

#### **Виды, рекомендуемые для включения в 3-е издание Красной книги Саратовской области**

**Смолевка меловая (*Silene cretacea* Fisch. ex Spreng.).** На территории Саратовской области (в ее нынешних границах) смолевка меловая собиралась К. Клаусом в середине XIX в. в окрестностях с. Норка Саратовского уезда (ныне с. Некрасово Красноармейского района) [28]. С тех пор достоверная информация о сборах данного вида на территории области отсутствует. В «Конспекте флоры Саратовской области» [29] имеются данные о местонахождении вида в Озинском районе. Однако, по современным представлениям, эти популяции относятся к близкому виду *S. fruticulosa* Bieb. [30]. А. Г. Еленевский с соавторами [17] считает, что указание смолевки меловой для территории Саратовской области, вероятно, является ошибочным. По этой причине вид не включен в «Определитель сосудистых растений Саратовской области (Правобережье Волги)» [31]. Смолевка меловая не упоминается также и в специальной статье Ю. И. Буланого, А. Г. Еленевского и О. А. Исаевой [32], посвященной категориям редкости видов и включающей списки, по-видимому, исчезнувших и исключительно редких видов саратовского Правобережья.

Смолевка меловая не была включена в первое издание «Красной книги Саратовской

области» [33], однако упоминается там в списке не обнаруженных за последние годы видов. Во второе издание «Красной книги Саратовской области» вид также не вошел ввиду отсутствия его находок на территории области в течение столь длительного периода времени.

Летом 2008 г. небольшая популяция смолевки меловой была обнаружена в 6 км юго-западнее с. Некрасово (урочище «Дальнее») Красноармейского района Саратовской области. Было выявлено и изучено три ценопопуляции данного редкого вида, приуроченные к меловым обнажениям склонов юго-восточной экспозиции [34, 35].

Исходя из имеющихся данных, есть все основания утверждать, что изученные ценопопуляции *Silene cretacea* являются уникальными для территории области. Информация о нахождении *Silene cretacea* на территории Красноармейского района Саратовской области должна быть учтена при составлении региональных флористических списков. Результаты ценопопуляционных и фитоценологических исследований могут служить базой для дальнейшего мониторинга популяций ряда охраняемых на федеральном и региональном уровнях видов растений.

Смолевку меловую необходимо включить в третье издание «Красной книги Саратовской области» с категорией и статусом 1 (E) – вид, находящийся под угрозой исчезновения, поскольку известно всего одно местонахождение вида с общей численностью особей менее 600 экз. В качестве основной меры охраны вида следует рекомендовать сохранение целостности местообитания.

**Водяной лютик Риони (*Batrachium rionii* Lagger).** По данным А. Г. Еленевского, Ю. И. Буланого, В. И. Радыгиной [17], вид отмечен в Озинском и Татищевском районах. В 2008 г. найден в Хвалынском районе [20]. В июне 2012 г. водяной лютик Риони обнаружен нами в Федоровском районе в пруду Тамбовский в окрестностях с. Тамбовка. Здесь *Batrachium rionii* образовывал монодоминантные сообщества на глубинах 70–120 см. Кроме того, данный вид отмечен в роли содоминанта в сообществе *Batrachium trichophyllum* + *Batrachium rionii*, где на его долю приходилось до 30% проективного покрытия.

Рекомендуем включить данный вид в третье издание Красной книги Саратовской области со статусом и категорией 2 (V) – уязвимый вид.

**Сарсазан шишковатый (*Halocnemum strobilaceum* (Pall.) Bieb.).** Согласно данным А. Г. Еленевского с соавторами [17], встреча-



ется на крайнем юго-востоке Левобережья в Ал-Гайском и Новоузенском районах.

В мае 2012 г. отмечен в Озинском районе на побережье озера Бол. Морец на солончаке гидроморфном типичном в пределах озерной поймы. Окружающая растительность сложена сообществами с доминированием однолетних солянок: (асс. *Salicornia perennans*, асс. *Suaeda prostrata*, асс. *Suaeda acuminata*, *Salicornia perennans* + *Suaeda acuminata*, *Suaeda acuminata* + *Ofaiston monandrum*, *Suaeda* sp. + *Puccinellia distans*). Все они образуют хорошо выраженные пояса на переувлажненных, самых близких к ложу озера территориях. Ширина отдельных поясов достигает нескольких десятков метров. Общее проективное покрытие составляет 70–85% в сложных сформированных сообществах и не превышает 5% в моновидовых ценозах солероса, формирующихся в непосредственной близости от уреза воды. Видовой состав фитоценозов беден (1–6 видов), преобладают по площади чистые заросли солероса.

Меньшие площади в пойме озера занимают сообщества с доминированием гемикриптофитов и хамефитов (асс. *Artemisia santonica*, *Puccinellia distans*, *Puccinellia distans* + *Artemisia santonica*, *Artemisia santonica* + *Limonium gmelinii*, *L. capsicum* и др.). Они приурочены к небольшим понижениям с близким залеганием грунтовых вод. Проективное покрытие 60–85%, флористическое богатство – до 13 видов растений. Площади, занятые этими фитоценозами, невелики (6–30 м<sup>2</sup>).

Находка сарсазана шишковатого в Озинском районе Саратовской области расширяет представления о северной границе его ареала.

В связи с тем, что данный вид распространен на территории области крайне ограниченно, к тому же сведения о его нахождении в Ал-Гайском и Новоузенском районах не подтверждены соответствующими гербарными сборами, считаем необходимым рекомендовать данный вид для включения в третье издание Красной книги Саратовской области со статусом и категорией 1 (Е) – вид, находящийся под угрозой исчезновения.

**Роголистник донской (*Ceratophyllum tanaiticum* Sapjegin)** во втором издании Красной книги Саратовской области внесен в Приложение 2 как вид, рекомендуемый к выведению из списка аборигенной флоры Саратовской области [1]. В конспекте флоры Саратовской области вид не значится ([17]). Однако имеются указания Ю. И. Буланого и О. В. Чеботаревой о находке данного вида в Дергачевском районе [36].

Крупная популяция роголистника донского была обнаружена нами в июне 2010 г. в Новоузенском районе в пруду Новиковский. В течение трех лет проводился мониторинг состояния популяции. Пруд Новиковский представляет собой искусственный водоем подковообразной формы, созданный в балке. В 2006–2008 гг. пруд был почти полностью пересохшим, в 2010 г. он вновь наполнился водой. Берега пруда невысокие, но достаточно крутые, местами берег выполаживается; глубина до 3 м. Пруд используется для рыбозаповедения.

В пр. Новиковском было описано три ассоциации с *Ceratophyllum tanaiticum*: *Ceratophyllum tanaiticum*, *Phragmites australis* – *Ceratophyllum tanaiticum*, *Scirpus lacustris* + *Phragmites australis* – *Ceratophyllum tanaiticum*. Проективное покрытие роголистника донского составило 30–70%. Сообщества первой ассоциации отмечены на глубинах 50–90 см. В качестве сопутствующих видов здесь встречаются с незначительными обилием *Potamogeton lucens* и *P. pectinatus*. Фитоценозы ассоциаций *Phragmites australis* – *Ceratophyllum tanaiticum* и *Scirpus lacustris* + *Phragmites australis* – *Ceratophyllum tanaiticum* отмечены на глубинах 15–100 см на илистом грунте. Помимо доминантов обычны *Lemna minor*, *Oenanthe aquatica*, *Eleocharis palustris*.

Состояние ценопопуляций *Ceratophyllum tanaiticum* по годам достаточно стабильное. Изменялась лишь площадь, занятая разными ассоциациями в зависимости от уровня воды в пруду. Но преобладание по площади асс. *Phragmites australis* – *Ceratophyllum tanaiticum* сохранялось во все годы.

В 2012 г. *Ceratophyllum tanaiticum* был отмечен в Федоровском районе в пруду Терешкин в 4,5 км южнее с. Романовка. Здесь были описаны следующие ассоциации с участием *Ceratophyllum tanaiticum*: *Ceratophyllum tanaiticum*, *Scirpus lacustris* – *Ceratophyllum tanaiticum*, *Ceratophyllum tanaiticum* – *Polygonum amphibium*. Все сообщества отмечены на глинистом грунте на глубинах 20–100 см.

В Аткарском районе *Ceratophyllum tanaiticum* был отмечен в 2012 г. в 4,5 км восточнее с. Озерное в долине р. Идолга в озере Артемовом. Здесь сообщества с доминированием данного вида занимают участки с илистым грунтом на глубинах 10–40 см. Помимо доминанта в фитоценозах отмечены *Lemna minor*, *Scirpus lacustris*, *Ceratophyllum demersum*.

Рекомендуем включить *Ceratophyllum tanaiticum* в третье издание Красной книги Са-



ратовской области со статусом и категорией 1 (E) – вид, находящийся под угрозой исчезновения. Работы по выявлению новых ценопопуляций данного вида необходимо продолжить.

**Роголистник светло-зеленый (*Ceratophyllum submersum* L.).** В Конспекте флоры [17] вид указывается для Марковского, Новоузенского (хут. Ровный, пруд) и Самойловского (заводи р. Иловли) районов.

Крупные ценопопуляции данного вида были отмечены нами в 2009 г. в Новоузенском районе в пруду Новый, в р. Таволожке и в 2012 г. в Питерском районе в лимане в окрестностях с. Моршанка. В пруду Новый данный вид образовывал монодоминантные сообщества на глубинах 40–70 см с незначительной примесью *Potamogeton lucens*. В реке Таволожке *Ceratophyllum submersum* был отмечен на глубинах 50–100 см в сообществах с доминированием *Typha angustifolia* и *Myriophyllum spicatum*. В лимане близ с. Моршанка роголистник светло-зеленый был отмечен с небольшим обилием в фитоценозах с доминированием *Scirpus lacustris* на глубинах 20–50 см. Из сопутствующих видов отмечены также *Lemna minor*, *Rorippa amphibia*.

На территории Ровенского района данный вид отмечен в 2010 г. в р. Бизюк в у с. Кривояр в сообществах с доминированием *Ceratophyllum demersum* и *Potamogeton pectinatus* на глубинах 30–50 см.

В пределах Советского района описана крупная ценопопуляция *Ceratophyllum submersum* в пруду в окрестностях с. Лебедево. Здесь *Ceratophyllum submersum* образовывал монодоминантные сообщества на глубинах 20–140 см на илистом грунте. В качестве примеси к доминанту отмечены *Potamogeton pectinatus*, *Lemna minor*, *Oenanthe aquatica*, *Eleocharis palustris*.

В Краснокутском районе в окрестностях с. Дьяковка также отмечены крупные ЦП данного вида во временном водоеме. *Ceratophyllum submersum* здесь образовывал как монодоминантные сообщества, так и фитоценозы, где в качестве содоминанта выступали *Potamogeton pectinatus*, *P. gramineus*. Все сообщества отмечены на илистом грунте на глубинах 30–60 см.

Рекомендуем включить данный вид в 3-е издание Красной книги Саратовской области с категорией и статусом 2 (V) – уязвимый вид.

Как показали наши исследования, распространенное мнение о том, что «плоды у роголистников в наших условиях образуются редко» [17, 36], не находит подтверждения при полевых исследованиях. За период изучения раститель-

ности водоемов Саратовской области с 2008 по 2012 гг. лишь немногим более 20% экземпляров роголистников не имели плодов. Во всех остальных случаях три встреченных вида (*Ceratophyllum submersum*, *C. tanaiticum*, *C. demersum*) отмечались с плодами с конца июня-начала июля и до конца августа в водоемах и водотоках разных типов. Поэтому задача выявления реального распространения по области двух отмеченных выше редких видов роголистников с достоверным их определением вполне реальна.

**Сведа солончаковая (*Suaeda salsa* (L.) Pall.)** встречается изредка в Левобережье (Краснокутский и Энгельсский районы) [17]. Данный вид был также отмечен нами в пойме озера Бол. Морец в составе сообществ с доминированием суккулентных терофитов: асс. *Salicornia perennans*, *Suaeda acuminata*, *Salicornia perennans* + *Suaeda acuminata*, *Suaeda acuminata* + *Ofaiston monandrum*. Почвы под сообществами – солончаки гидроморфные типичные и солончаки гидроморфные луговые. Численность ценопопуляции составляет несколько сотен особей, плотность – до 40 экз/м<sup>2</sup>.

Для решения вопроса о необходимости включения данного вида в третье издание Красной книги Саратовской области необходимо проведение дополнительных полевых исследований растительности засоленных местообитаний в разных районах саратовского Заволжья. Возможно, «редкость» вида на территории области объясняется недостаточной изученностью соответствующих местообитаний.

**Повойничек мокричный (*Elatine alsinistrum* L.).** Вид не внесен в Красную книгу Саратовской области, однако его распространение на территории региона весьма ограничено. На территории саратовского Заволжья указывается лишь для Озинского и Энгельсского районов [17].

В июне 2012 г. небольшая ценопопуляция данного вида была обнаружена нами в Краснокутском районе в 2 км северо-западнее с. Дьяковка во временном водоеме у р. Еруслан. Водоем имеет небольшую площадь, занятую разнообразной водной и прибрежно-водной растительностью. Среди гелофитов преобладают заросли *Alisma lanceolata* и *Scirpus lacustris*. Из настоящей водной растительности отмечены сообщества формаций *Potamogeton lucens*, *Lemna minor*.

*Elatine alsinistrum* отмечен в сообществе с доминированием *Potamogeton lucens* на глубинах 20–30 см на илистом грунте.



В связи с крайне ограниченным распространением вида на территории области, малой численностью его ценопопуляций и приуроченностью к экотонным нестабильным местообитаниям рекомендуем рассмотреть вопрос о включении вида в 3-е издание Красной книги Саратовской области с категорией и статусом 3 (R) – редкий вид.

**Гименолобус лежащий (*Hymenolobus procumbens* (L.) Nutt.)**. А. Г. Еленевский и др. [17] указывают, что вид встречался в окрестностях с. Валувка Новоузенского уезда. По нынешнему административно-территориальному делению с. Валувка находится в Волгоградской области. Современных указаний на произрастание вида в нашей области нет.

В мае 2011 г. *Hymenolobus procumbens* был найден нами в Озинском районе на побережье озера Бол. Морец. Здесь описаны как чистые заросли данного вида, так и сообщества с доминированием *Hymenolobus procumbens*, в которых в качестве сопутствующих видов отмечены *Salicornia perennans*, *Limonium caspium*, *Lepidium perfoliatum*.

На основании имеющихся данных рекомендуем включить этот вид в 3-е издание Красной книги Саратовской области с категорией и статусом 1 (E) – вид, находящийся под угрозой исчезновения.

В настоящее время полевые исследования по распространению редких видов растений на территории области продолжаются. На основании полученных данных приведенный список рекомендуемых к включению в 3-е издание Красной книги видов растений будет дополнен.

### Список литературы

1. Красная книга Саратовской области. Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Изд-во Торг-пром. палаты Саратов. обл., 2006. 528 с.
2. Глазунов В. А., Хозяинова Н. В., Кузьмин И. В. Изменения и дополнения к перечню охраняемых растений Тюменской области // Вестн. Тюмен. гос. ун-та. 2012. № 6. С. 80–86.
3. Митрошенкова А. Е., Лысенко Т. М. Дополнения к создаваемой Красной Книге Самарской области // Современные направления изучения флоры и растительности : материалы регион. науч.-практ. конф. (г. Бирск, 1–3 июля, 2005 г.). Бирск, 2005. С. 28–29.
4. Саксонов С. В., Сенатор С. А., Раков Н. С. Красная книга Самарской области: взгляд в будущее // Раритеты флоры Волжского бассейна : докл. участников науч. конф. (Тольятти, 12–15 окт. 2009 г.). Тольятти, 2009. С. 195–201.
5. Елизаров А. В. Красная книга Самарской области : взгляд со стороны (критические заметки по книге : Красная книга Самарской области. Т. 1. Редкие виды растений, лишайников и грибов / под ред. чл.-корр. РАН Г. С. Розенберга и проф. С. В. Саксонова. Тольятти : ИЭВБ РАН, 2007. 372 с.) // Фиторазнообразие восточной Европы. 2008. № 5. С. 195–204.
6. Аникин В. В., Березуцкий М. А., Завьялов Е. В. и др. Материалы по ведению Красной книги Саратовской области в 2008 г. Сообщение I. Новые сведения об охраняемых видах // Изв. Самар. НЦ РАН. 2009. Т. 11, № 1. С. 133–139.
7. Сенатор С. А., Васюков В. М., Саксонов С. В., Раков Н. С. Виды растений, подлежащие внесению в Красную книгу Ульяновской области // Самарская Лука. 2010. Т. 19, № 4. С. 111–122.
8. Саксонов С. В., Раков Н. С., Сенатор С. А. Материалы по ведению Красной книги Ульяновской области. Сообщение 1 // Изв. Самар. НЦ РАН. 2011. Т. 13, № 1. С. 63–65.
9. Письмаркина Е. В. Флористические материалы для ведения Красной книги Ульяновской области за 2011 год // Изв. Самар. НЦ РАН, 2012. Т. 14., № 1 (7). С. 1816–1820.
10. Давиденко О. Н., Невский С. А., Гребенюк С. И. Характеристика ценопопуляций риндеры четырехщитковой на территории урочища «Дальнее» Саратовской области // Науч. тр. нац. парка «Хвалынский». Вып. 2. Саратов ; Хвалынк : Науч. кн., 2010. С. 91–95.
11. Давиденко О. Н., Невский С. А. Характеристика сообществ с участием астрагала вздутого (*Astragalus physodes* L.) на территории Саратовской области // Современное состояние и стратегии сохранения природных и антропогенных экосистем : материалы Всерос. заоч. науч.-практ. конф. Астрахань, 2010. С. 106–108.
12. Давиденко О. Н., Невский С. А., Давиденко Т. Н. Региональная интегрированная база данных как основа мониторинга и сохранения редких и исчезающих видов растений Саратовской области // Изв. Саратов. гос. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2011. Т. 11, вып. 1. С. 43–47.
13. Невский С. А., Давиденко О. Н. О новой находке руппии морской (*Ruppia maritima* L.) в Саратовской области // Изв. Саратов. гос. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2012. Т. 12, вып. 2. С. 55–57.
14. Невский С. А., Давиденко О. Н., Пискунов В. В., Давиденко Т. Н. Растительность солоноватых озер восточной части саратовского Заволжья // Изв. Самар. НЦ РАН. 2012. Т. 14, № 1 (4). С. 1077–1080.
15. Давиденко О. Н., Серова Л. А., Невский С. А., Давиденко Т. Н. Характеристика сообществ с участием брандушки разноцветной (*Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng.) в Красноармейском районе Саратовской области // Науч. тр. нац. парка «Хвалынский». Вып. 3. Саратов ; Хвалынк : Науч. кн., 2011б. С. 76–83.



16. Невский С. А., Давиденко О. Н. Функциональная структура и устойчивость степных растительных сообществ с участием редких видов растений в саратовском Заволжье // Изв. Саратов. гос. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2011. Т. 11, вып. 2. С. 116–121.
17. Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Конспект флоры Саратовской области. Саратов : Наука, 2008. 232 с.
18. Клинкова Г. Ю., Панин А. В. Руппия морская – *Ruppia maritima* L. // Красная книга Саратовской области : Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. С. 55–56.
19. Архипова Е. А., Панин А. В. Хвостник обыкновенный *Hippuris vulgaris* L. // Красная книга Саратовской области. Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. С. 175.
20. Седова О. В., Закурдаева М. В., Бекренева Е. С. и др. Новые и редкие виды гидрофильной флоры Саратовской области // Изв. Саратов. гос. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2012. Т. 12, вып. 1. С. 53–56.
21. Березуцкий М. А., Панин А. В. Астрагал пузырчатый *Astragalus physodes* L. // Красная книга Саратовской области. Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. С. 152–153.
22. Буланая М. В., Мичурин В. Г. Риндера четырёхщитковая *Rindera tetraspis* Pall. // Красная книга Саратовской области: Грибы. Лишайники. Растения. Животные / Ком. охраны окружающей среды и природопользования Саратов. обл. Саратов, 2006. С. 193.
23. Смирнов Л. А. О флоре меловых выходов в Заволжье // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1934. Т.43, вып. 1. С. 88–111.
24. Гребенюк С. И., Давиденко О. Н., Невский С. А., Архипова Е. А. Характеристика сообществ с участием *Rindera tetraspis* Pall. на территории урочища «Дальнее» // Бюл. Бот. сада СГУ. 2010. Вып. 9. С. 44–50.
25. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / сост. Р. В. Камелин и др. М. : Тов. науч. изд. КМК, 2008. 855с.
26. Худякова Л. П. Брандушка разноцветная – (*Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng.) // Красная книга Саратовской области. Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. С. 78.
27. Худякова Л. П., Давиденко О. Н. Льянка неполная – *Linaria incompleta* Kurgian // Красная книга Саратовской области. Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов : Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. С. 78.
28. Флора Юго-Востока европейской части СССР. Вып. IV. Л. : Изд. Глав. Бот. Сада, 1930. 360 с.
29. Конспект флоры Саратовской области. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1979. Ч. 2. 88 с.
30. Цвелев Н. Н. Род Смолевка – *Silene* L. // Флора Восточной Европы. Т. 11. М. ; СПб. : КМК, 2004. С. 233–247.
31. Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Определитель сосудистых растений Саратовской области. Саратов : ИП Баженов, 2009. 248 с.
32. Буланый Ю. И., Еленевский А. Г., Исаева О. А. Критерии редкости видов растений // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2003. Вып. 6. С. 3–13.
33. Красная книга Саратовской области : Растения, грибы, лишайники. Животные. Саратов : Детск. кн., 1996. 264 с.
34. Давиденко О. Н., Невский С. А., Березуцкий М. А., Архипова Е. А. Эколого-фитоценологическая характеристика местообитаний и структура ценопопуляций смолевки меловой (*Silene cretacea* Fisch. ex Spreng.) в Саратовской области // Изв. Самар. НЦ РАН. Т. 13, №1. 2011а. С. 74–78.
35. Невский С. А., Давиденко О. Н., Березуцкий М. А., Архипова Е. А. О находке смолёвки меловой (*Silene cretacea* Fisch. ex Spreng., Caryophyllaceae) в Саратовской области // Поволж. экол. журн. 2009. № 2. С. 170–173.
36. Буланый Ю. И., Чеботарева О. В. Роголистники (*Ceratophyllum*, *Ceratophyllaceae*) Саратовской области // Изв. Саратов. гос. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2012. Т. 12. вып. 3. С. 56–58.





УДК 632.752.2 (470.44)

## ВЫЯВЛЕНИЕ ФАКТОРОВ ФИТОПАТОГЕННОСТИ У БАКТЕРИЙ-АССОЦИАНТОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ТЛИ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

М. С. Малышина, А. М. Петерсон, С. Ю. Балтаева

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



Выявлены факторы фитопатогенности у бактерий-ассоциантов яблонной (*Aphis pomi* Deg.), смородиновой (*Eriosoma ulmi* L.), сливоопыленной (*Hyalopterus pruni* L.), вишнёвой (*Myzus cerasi* F.), калиновой (*Aphis viburni* Scop.) тли. Способностью к мацерации растительных тканей обладали 35% штаммов, изолированных из тли, целлюлолитической активностью – 9% штаммов-ассоциантов. Штаммы, обладающие факторами фитопатогенности, чаще выделялись из организмов яблонной (32% от общего количества изолятов), калиновой (31%), вишневой (33%), сливоопыленной (29%) тли. Реже такие штаммы изолировались из организмов смородиновой тли (13%). 6 штаммов с наибольшим количеством факторов фитопатогенности были идентифицированы как *Serratia marcescens*, *Bacillus pseudomycooides* (2 штамма), *B. funiculus*, *B. pumilus*, *Brenneria nigrifluens*.

**Ключевые слова:** тли, бактерии-ассоцианты, факторы фитопатогенности.

### Revealing of Factors Phytopatogenic in Bacteria-Associants Some Species of Aphis in Saratov Region

M. S. Malyshina, A. M. Peterson, S. Yu. Baltaeva

The factors of phytopathogenic bacteria-associants of *Aphis pomi* Deg., *Eriosoma ulmi* L., *Hyalopterus pruni* L., *Myzus cerasi* F., *Aphis viburni* Scop. was revealed. Ability of the strains isolated from aphids to macerate plant tissues was shown for 35% of isolates, cellulolytic activity – 9% strains of bacteria-associants. Strains with phytopathogenic factors more often were isolated from *Aphis pomi* Deg. (32% of isolates), *Aphis viburni* Scop. (31%), *Myzus cerasi* F. (33%), *Hyalopterus pruni* Geoffr. (29%). Less phytopathogenic strains were isolated from *Eriosoma ulmi* L. 1 (13%). 6 strains with most of phytopathogenic factors have been identified as *Serratia marcescens*, *Bacillus pseudomycooides* (2 strains), *B. funiculus*, *B. pumilus*, *Brenneria nigrifluens*.

**Key words:** aphids, bacteria-associants, factors phytopatogenic.

В последнее время регистрируется нарастающее заражение сельскохозяйственных культур фитопатогенами. Фитопатогенные бактерии могут вызывать ожоги, увядания, пятнистости, гнили, различные опухоли [1].

В России от бактериального рака, гнили и других заболеваний, вызванных фитопатогенными бактериями, погибают 70–80% плодовых деревьев, таких как яблони, груши, вишня, слива

и другие [2]. В распространении возбудителей бактериозов существенную роль могут играть насекомые, ассоциированные с растениями. В роли переносчиков наиболее часто оказываются сосущие насекомые и в частности тли. Более того, в организме насекомых некоторые возбудители могут сохраняться и трансвариально передаваться следующим поколениям [3]. Помимо хорошо известных фитопатогенных видов в последнее время многие сапрофитические виды постепенно переходят в разряд условно патогенных и патогенных. Несмотря на это, в литературе практически отсутствуют сведения о циркуляции в природе потенциальных фитопатогенов и о роли тли в их распространении.

В связи с этим целью данной работы явилось выявление факторов фитопатогенности у бактерий, ассоциированных с некоторыми видами тли в Саратовской области.

Насекомые для микробиологических исследований были собраны в Балашовском, Саратовском, Базарно-Карабулакском и Энгельском районах Саратовской области.

Объектом исследования послужили штаммы бактерий, выделенные в этих районах в 2011–2012 гг. из вишневой (*Myzus cerasi* F.), калиновой (*Aphis viburni* Scop.), сливоопыленной (*Hyalopterus pruni* Geoffr.), смородиновой (*Eriosoma ulmi* L.), яблонной (*Aphis pomi* Deg.) тли. Определение видовой принадлежности тлей проводилось кандидатом сельскохозяйственных наук, профессором кафедры энтомологии СГАУ им. Н. И. Вавилова Б. С. Якушевым.

Выделение и идентификацию бактерий-ассоциантов проводили по методикам, описанным ранее [4].

Всего было исследовано 124 изолята, которые относились к грамтрицательным палочкам, грамположительным неспоровым палочкам и грамположительным спорным палочкам (табл. 1).

Выделенные штаммы исследовались на наличие у них мацерирующей способности и целлюлолитической активности.



Таблица 1

**Объекты исследования**

Объект выделения (вид тли)	Морфологические формы бактерий-ассоциантов, количество штаммов			Всего штаммов
	Грамотрицательные палочки	Грамположительные		
		неспоровые палочки	споровые палочки	
Вишневая тля	7	4	13	24
Калиновая тля	4	0	7	11
Сливоопыленная тля	12	3	12	27
Смородиновая тля	3	1	11	15
Яблонная тля	13	8	26	47
Всего	39	16	69	124

Мацерация – разьединение растительных клеток в тканях при растворении или разрушении межклеточного вещества. Способность к мацерации определялась на стандартных тест-объектах. Клубни картофеля и корнеплоды моркови и свёклы промывали, высушивали. Затем стерилизовали поверхность 96% этанолом и нарезали диски растительных тканей, которые помещали в чашки Петри на увлажнённые фильтры. На каждый диск наносили суточные культуры исследуемых штаммов бактерий. Чашки помещали в термостат для культивирования на 1–3 суток при температуре 28°С. Наличие или отсутствие мацерации определяли визуально при прикосновении к дискам бактериологической петлёй.

Для выявления целлюлолитической активности – способности бактерий разлагать цел-

люлозу – исследуемые бактериальные суточные культуры засеивали медальонами на поверхность минимальной агаризированной среды, содержащей 0,1% растворимой целлюлозы и инкубировали в течении 48 ч при температуре 28°С. После этого чашки заливали 0,1% водным раствором конго красного и выдерживали 20 мин. Краситель сливали, чашки промывали 8% водным раствором хлорида натрия. Наличие светлых неокрашенных зон в местах роста бактерий или вокруг медальонов свидетельствовало о продукции целлюлолитических ферментов [5].

При выявлении мацерирующей активности было установлено, что бактерии различных морфологических групп содержали примерно одинаковое количество штаммов, способных к мацерации растительных тканей (рис. 1).



Рис. 1. Мацерирующая активность: а – грамотрицательных; б – грамположительных неспоровых; в – грамположительных споровых палочек (количество штаммов, показавших положительную реакцию, %)

Так, способностью к мацерации ткани хотя бы одного тест-растения обладали 31% штаммов грамотрицательных палочек, 36% грамположительных неспоровых палочек и 38% грамположительных споровых палочек.

Наиболее эффективно бактерии, выделенные из тли, мацерировали ткани картофеля и

свёклы, меньшее количество штаммов было способно к мацерации тканей моркови (табл. 2).

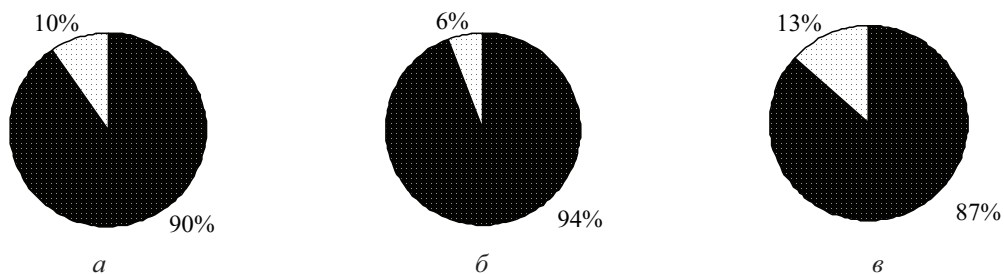
Целлюлолитическая активность была выявлена у 13% штаммов грамположительных споровых палочек, 10% штаммов грамотрицательных палочек и 6% штаммов грамположительных неспоровых палочек (рис. 2).



Таблица 2

**Способность штаммов, изолированных из тли, к мацерации различных растительных тканей**

Мацерация тканей	Количество штаммов, давших положительную реакцию					
	Грамположительные споровые палочки		Грамположительные неспоровые палочки		Грамотрицательные палочки	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Картофель	18	26	4	25	7	18
Морковь	3	5	1	7	4	11
Свёкла	15	22	6	38	7	18



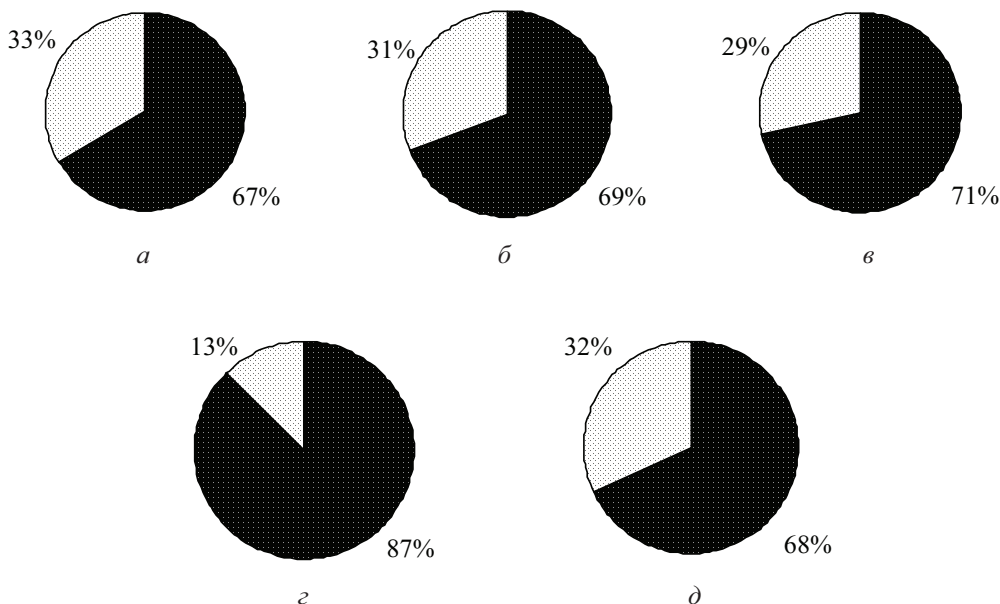
■ Штаммы, необладающие целлюлолитической активностью

□ Штаммы, обладающие целлюлолитической активностью

Рис. 2. Целлюлолитическая активность: *а* – грамотрицательных; *б* – грамположительных неспоровых; *в* – грамположительных споровых палочек (количество штаммов, показавших положительную реакцию, %)

Таким образом, и мацерирующая, и целлюлолитическая активности чаще встречались у грамположительных споровых палочек.

Мы проанализировали, из каких видов тли чаще всего выделяются бактерии, обладающие факторами фитопатогенности (рис. 3).



■ Штаммы, необладающие факторами фитопатогенности

□ Штаммы, обладающие факторами фитопатогенности

Рис. 3. Содержание штаммов (%), обладающих факторами фитопатогенности, в различных видах тли: *а* – вишневой, *б* – калиновой, *в* – сливоопыленной, *г* – смородиновой, *д* – яблонной



Было установлено (см. рис. 3), что из организмов вишневой, калиновой, сливоопылённой и яблонной тли выделялось примерно одинаковое количество штаммов с факторами фитопатогенности. Реже такие штаммы изолировались из организмов смородиновой 13% тли.

Из всего спектра штаммов, обладающих теми или иными факторами фитопатогенности, особый интерес представляют 6 штаммов, у которых выявлено 3–4 фактора фитопатогенности, и которые с наибольшей вероятностью могут оказаться патогенными для растений (табл. 3).

Таблица 3

## Штаммы, обладающие наибольшим количеством факторов фитопатогенности

№ штамма	Объект выделения	Целлюлолитическая активность	Мацерация тканей		
			картофеля	моркови	свёклы
205	Калиновая тля	+	+	–	+
223		+	+	+	+
422	Смородиновая тля	+	+	+	+
166		+	+	–	+
547	Сливоопылённая тля	+	+	–	+
580	Вишневая тля	–	+	+	+

Наиболее активными из них оказались штаммы № 223 и 422, которые обладали целлюлолитической активностью и мацерировали все использованные в экспериментах растительные ткани.

Фенотипическая и генотипическая идентификация этих штаммов показала их принадлежность к родам *Bacillus* (штамм 223 – *B. pseudomycooides*, штамм 422 – *B. simplex*, штамм 580 – *B. pumilus*), *Serratia* (штамм 205 – *S. marcescens*), *Brenneria* (штамм 547 – *B. nigrifluens*).

Все выделенные виды рода *Bacillus* являются широко распространенными обитателями окружающей среды. *Serratia marcescens* известен как энтомопатогенный вид, вызывает бактериозы более чем у 70 видов насекомых [6]. *Brenneria nigrifluens* является возбудителем некроза коры плодовых деревьев [7, 8].

Представляло интерес проанализировать экологические особенности этих штаммов. Выявлены различия их приуроченности к тем или иным видам тли. Было установлено, что по 2 вида ассоциированы с калиновой и смородиновой тлей, по 1 виду – с вишнёвой и сливоопылённой тлей. Интересно, что штаммов с большим количеством факторов фитопатогенности не было выделено из яблонной тли, хотя именно из этих насекомых было исследовано наибольшее количество штаммов.

Определённые закономерности прослеживаются и в сроках их выделения: в мае было выделено 3 штамма, в июне – 2, и лишь 1 в 1 декаде июля. Интересно, что в более поздние сроки штаммы с большим количеством факторов фитопатогенности не выделялись, несмотря на

то что микробиологические исследования насекомых продолжались до сентября-ноября. Из литературы известно, что бактериозы у растений проявляются в основном весной в период бутонизации и в первой половине лета [9]. Тогда же у большинства видов тли происходит отрождение личинок, появление самок-основательниц и массовое размножение [10]. Совпадение сроков активной циркуляции фитопатогенных бактерий в растительных тканях и интенсивного размножения и расселения тли способствует участию этих насекомых в распространении возбудителей заболеваний растений. Наши исследования показали, что и потенциальные фитопатогены наиболее активно циркулируют в системе растение-насекомое весной и в первой половине лета.

Встречаемость в пробах анализируемых видов также сильно варьировала. Наиболее высокие показатели встречаемости были характерны для *Serratia marcescens*, который в конце мая изолировался из 100% проб калиновой тли. Высокие показатели встречаемости (60%) были отмечены и у *Bacillus pseudomycooides* в смородиновой тле в начале июля. Однако другой штамм этого же вида в калиновой тле встречался лишь в 10% проб. Низкие показатели встречаемости были характерны и для других штаммов.

Количественные показатели содержания штаммов с большим количеством факторов фитопатогенности в организмах тли варьировали от  $10^3$  до  $10^7$  КОЕ в пробе. Причём высокие количественные показатели ( $10^7$ ) были отмечены только для *Serratia marcescens*. Количественные показатели остальных штаммов не превышали  $10^5$  КОЕ в пробе. Известно, что для возникнове-



ния инфекционного процесса необходимо, чтобы восприимчивый организм получил достаточную инфицирующую дозу возбудителя. Исходя из этого можно предположить, что наибольшая вероятность стать эффективным переносчиком фитопатогена есть у калиновой тли, которая содержала *Serratia marcescens* в наиболее высокой концентрации.

Таким образом, проведенные исследования показали, что тли могут являться носителями как уже известных фитопатогенов, так и видов, которые потенциально способны вызывать патологические изменения в растительных тканях. Выделенные нами штаммы с большим количеством факторов фитопатогенности требуют дальнейшего изучения и могут существенно расширить круг уже известных возбудителей бактериозов растений.

### Список литературы

1. Чураков Б. П., Чураков Д. Б. Фитопатология : учебник. М. : ГОУ ВПО МГУЛ, 2007. 424 с.
2. Григорьевич Л. Н., Макаревич А. И. Защита плодовых деревьев от болезней. Минск : Современное слово. 1998. 64 с.
3. Сидоров В. А. К вопросу о роли насекомых в распространении бактериоза березы // Актуальные проблемы лесного комплекса : сб. науч. тр. междунар. науч.-техн. конф. Брянск : БГИТА, 2007. Вып. 17. С. 234 – 236.
4. Петерсон А. М., Глинская Е. В., Малышина М. С. Сравнительная характеристика микробных ассоциаций некоторых видов тли в Саратовской области // Изв. Саратов. гос. ун-та. Нов. сер. 2011. Сер. Химия. Биология. Экология. Т. 11, вып. 2. С. 63–67.
5. Желдакова Р. А., Мямин В. Е. Фитопатогенные микроорганизмы : учеб.- метод. комплекс для студентов биол. фак. спец. G - 31 01 01 «Биология». Минск : БГУ, 2006. 116 с.
6. Каменек Л. К., Харина Н. И. Цитотоксическое действие дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis var. galleriae* на культуру клеток *Lymantria dispar* L. // Использование микроорганизмов в сельском хозяйстве и промышленности. Новосибирск : Наука, 1982. С. 72–79.
7. Brenner D. J., Krieg N. R., Garrity G. M. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology // J. T. Staley Springer. 2007. Vol. 2. 1136 p.
8. Boone D. R., Garrity G. M., Castenholz R. W., Brenner D. J., Krieg N. R. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology // J. T. Staley Springer. 2001. Vol. 3. 1450 p.
9. Воронкова Л. В. Бактериальный ожог плодовых // Фитопатогенные бактерии. Киев : Наук. думка, 1975. С. 240–243.
10. Ивановская О. И. Тли Западной Сибири. Новосибирск : Наука. Сиб. отд-ние, 1977. 328 с.

УДК 581.116 / 574.24

## ОСОБЕННОСТИ ТРАНСПИРАЦИИ ЛИСТЬЕВ ИВЫ БЕЛОЙ В УСЛОВИЯХ НЕФТЕХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Р. Ш. Ахмадуллин<sup>1</sup>, Г. А. Зайцев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Башкирский государственный педагогический университет им М. Акмуллы, Уфа  
E-mail: rust\_a@mail.ru

<sup>2</sup>Институт биологии Уфимского научного центра РАН  
E-mail: smu@anrb.ru

Изучены особенности транспирации листьев ивы белой в условиях преобладающего нефтехимического загрязнения Уфимского промышленного центра (Предуралья, Россия). Установлен факт уменьшения интенсивности транспирации листьев ивы белой в полуденные и вечерние часы и увеличение – в утренние часы, что объясняется неблагоприятными погодными условиями (высокая температура и низкая относительная влажность воздуха). В условиях загрязнения в утренние часы отмечается увеличение интенсивности транспирации по сравнению с контролем.

**Ключевые слова:** ива белая, нефтехимическое загрязнение, транспирация.



### Features of the White Willow Leaves Transpirations in the Conditions of Petrochemical Pollution

R. Sh. Ahmadullin, G. A. Zaitsev

Features of the white willow leaves transpiration in the conditions of prevailing petrochemical pollution of the Ufa industrial center (the Cis-Urals, Russia) are studied. The decrease fact of transpiration ratio of white willow leaves in mid-day and evening clocks and the increase in morning clocks was determined, bad weather conditions (the high temperature and the low relative air humidity ) what is explained. Under conditions of contamination in morning clocks the growth of transpiration ratio in comparison with control is noted.

**Key words:** white willow, petrochemical pollution, transpiration.



Работы по изучению роли древесных растений в улучшении качества среды обитания, в связи с их способностью поглощать промышленные загрязнители и тем самым снижать их содержание в окружающей среде (прежде всего – в атмосферном воздухе), ведутся на протяжении многих лет [1–6]. Однако до сих пор слабоизученными остаются вопросы устойчивости различных видов древесных растений к различным типам загрязнения окружающей среды.

Ива белая широко представлена в пойменных и городских лесах. До настоящего времени эколого-биологические характеристики данного вида в условиях промышленного загрязнения изучены слабо. Отсутствуют детальные исследования роста ивы белой в различных лесорастительных условиях.

Целью работы было изучение динамики транспирации листьев ивы белой (*Salix alba* L.) в условиях преобладающего нефтехимического загрязнения. Исследования проводились в течение вегетационного периода. Территория города Уфы была условно поделена на 3 зоны: зона относительного контроля (южная часть города, пойма р. Дема), средняя зона загрязнения (центральная часть города, пойма р. Белая), зона сильного загрязнения (северная промышленная часть города, пойма р. Белая). В каждой зоне были заложены постоянные и временные пробные площади.

Программа проведения исследований составлена с учетом имеющихся рекомендаций по изучению растительных и лесных сообществ [7–9]. Транспирация является основным процессом, характеризующим водный режим растения в условиях загрязнения. Показано, что для древесных (также и для травянистых) растений оптимально определять дневной ход транспирации в 9, 14 и 18 часов [10]. Для определения интенсивности транспирации отбирали листья ивы белой из средней части кроны, затем листья с точностью до 0,001 г взвешивали на электронных лабораторных весах ВЛТЭ-150 (Госметр, Россия). Весы подключались к бортовой сети автомобиля через преобразователь Power Inverter A-300 (Micro Control, Taiwan). Повторное взвешивание производили через 3 минуты, в течение которых листья лежали на рассеянном свете (в тени под кронами деревьев). Взвешивание проводили три раза в день – утром (до 9.00), в полдень (13.00–14.00) и вечером (18.00–19.00). Интенсивность транспирации рассчитывали по формуле:

$$ИТ = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 60}{m_1 \cdot 3} \cdot 1000, \text{ мг/г} \cdot \text{ч}$$

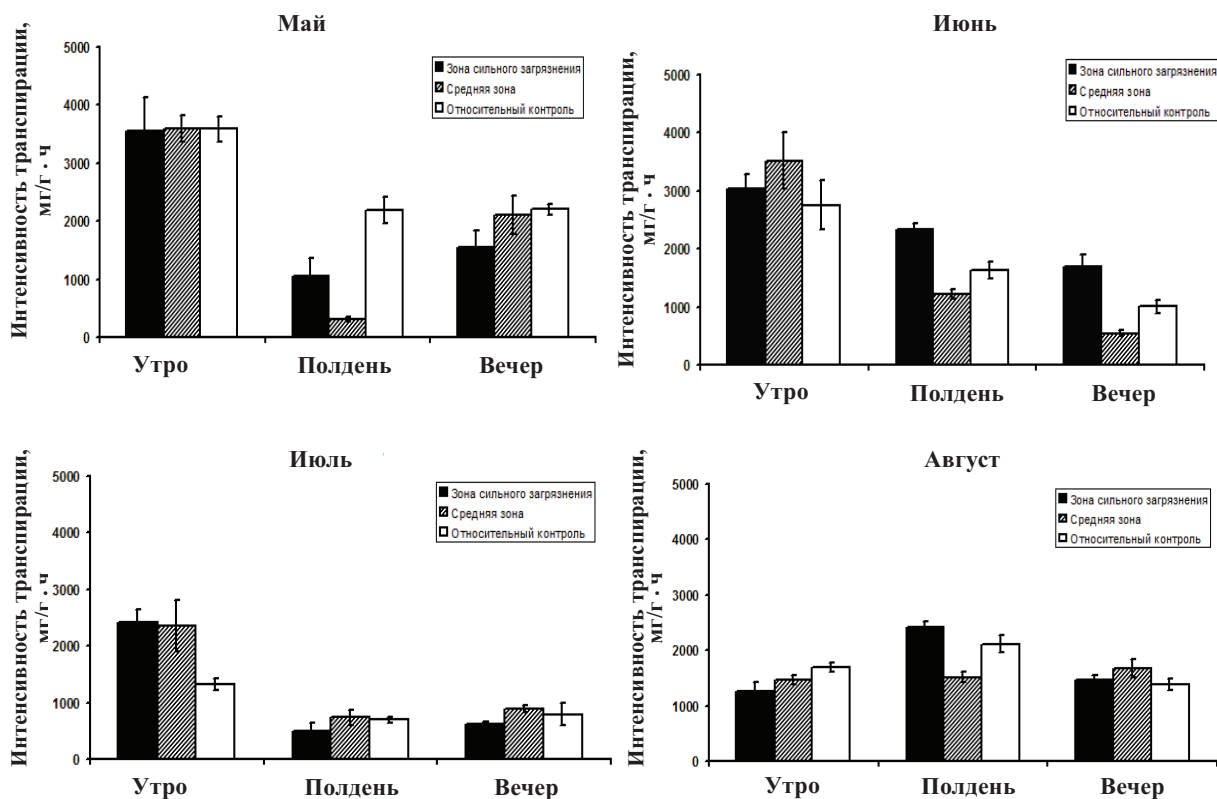
где  $m_1$  – масса хвои до выдерживания на рассеянном свете;  $m_2$  – масса хвои после 3-минутного выдерживания на рассеянном свете.

Характеристика погодных условий вегетационного периода 2012 г. получена по данным NOAA's National Climatic Data Center (National oceanic and atmospheric administration, www.ncdc.noaa.gov) и сервера «Погода России» (разработан лабораторией информационной поддержки космического мониторинга Института космических исследований РАН, meteo.infospace.ru).

Изучение динамики интенсивности транспирации (рисунок) показало, что максимальная интенсивность транспирации листьев ивы белой отмечается в утренние часы (май-июнь-июль), за исключением августа, когда максимальная интенсивность транспирации наблюдается в полдень. Минимальные показатели интенсивности транспирации в мае и июле отмечаются в полдень, в июне – в вечерние часы, в августе – минимальные значения интенсивности транспирации отмечены в утренние часы. Сравнивая интенсивность транспирации по месяцам, следует отметить, что в мае-июне интенсивность транспирации листьев ивы белой поддерживается на высоких значениях (в утренние часы в пределах 3300–3587 мг/г · ч). Минимальные значения отмечены в июле – в полуденные и вечерние часы интенсивность транспирации листьев ивы белой составляла 492–885 мг/г · ч. Низкие значения интенсивности транспирации листьев ивы белой в июле можно объяснить засушливыми условиями – в июле 2012 г. выпало 28,94 мм осадков при средней месячной норме 55 мм.

Сравнивая интенсивность транспирации листьев ивы белой в зависимости от уровня загрязнения, отметим следующее. В мае в зоне сильного загрязнения отмечается снижение интенсивности транспирации в полдень (в 2 раза) и вечерние часы (на 41%) по сравнению с контролем. Минимальные значения интенсивности транспирации (308 мг/г · ч) отмечены в зоне среднего уровня загрязнения. В утренние часы интенсивность транспирации ивы белой не изменяется в зависимости от уровня загрязнения (3578–3556 мг/г · ч).

В июне интенсивность транспирации в течение дня всегда выше в зоне сильного загрязнения – в утренние часы превышение по сравнению с контролем составляет 10%, в полдень – 42%, в вечерние часы – 67%. Как и в мае – в утренние часы интенсивность транспирации держится на высоком уровне (2753–3515 мг/г · ч), максимум отмечен в зоне среднего загрязнения.



Интенсивность транспирации листьев ивы белой в условиях нефтехимического загрязнения Уфимского промышленного центра

В июле в зоне сильного загрязнения отмечается снижение интенсивности транспирации на 42% в полдень и на 30% в вечерние часы по сравнению с контрольными значениями. Однако в утренние часы интенсивность транспирации в зоне сильного загрязнения выше на 82% по сравнению с контролем. В зоне среднего уровня загрязнения интенсивность транспирации листьев ивы белой держится на уровне контрольных значений (в полуденные и вечерние часы).

В августе в утренние часы в условиях загрязнения отмечается снижение интенсивности транспирации на 35% по сравнению с контролем. В полдень, наоборот, интенсивность транспирации листьев ивы белой выше в зоне сильного загрязнения (на 15% по сравнению с контролем). В вечерние часы интенсивность транспирации в зоне сильного загрязнения и в контроле находится примерно на одном уровне (1456 и 1382 мг/г · ч соответственно). В зоне среднего уровня загрязнения интенсивность транспирации листьев ивы белой в течение дня держится на одном уровне (утро – 1465 мг/г · ч, полдень – 1510 мг/г · ч, вечер – 1676 мг/г · ч).

Согласно многочисленным исследованиям, в естественных условиях должно происходить

увеличение интенсивности транспирации к полудню и уменьшение к вечеру. Известно также, что вместе с транспирационным током из листа идет значительная миграция солей. Следовательно, уменьшение интенсивности транспирации в условиях загрязнения может приводить не только к нарушению температурного режима, но и, по-видимому, способствовать большей аккумуляции некоторых токсикантов. В наших исследованиях отмечено, что в вечерние часы интенсивность транспирации снижается по сравнению с утренними и полуденными данными. В первую очередь это можно объяснить погодными условиями – в дни проведения исследований (середина каждого месяца) стояла жаркая погода, температура в вечерние часы превышала +28 °С, относительная влажность воздуха не превышала 50%. Кроме того, в июле 2012 г. выпало осадков в два раза меньше нормы. В таких неблагоприятных условиях (высокие температуры, низкая относительная влажность воздуха) происходит смещение максимума транспирационной активности на утренние часы. При этом в утренние часы в зоне сильного уровня загрязнения в июне и июле отмечается увеличение интенсивности транспирации по сравнению с контролем на 10 и



82% соответственно. Данный факт, что интенсивность транспирации возрастает к утру и то, что утренние показания интенсивности транспирации в условиях загрязнения практически всегда выше контрольных, предположительно можно объяснить тем, что листья ивы белой в течение дня уменьшают транспирационную активность из-за неблагоприятных погодных условий (высокая температура воздуха, низкая относительная влажность воздуха) и увеличивают ее к утру, чтобы вывести токсиканты, накопленные в течение дня.

В заключение следует отметить, что установленные различия в суточной и вегетационной динамике транспирации листьев ивы белой можно рассматривать как адаптивные реакции листьев ивы белой на действия нефтехимического загрязнения, направленные на обеспечение устойчивого роста и развития в экстремальных лесорастительных условиях.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант «Состояние водоохранно-защитных зон водохранилищ Башкирского Предуралья и Зауралья и обоснование мероприятий по формированию защитных лесных насаждений» 11-04-97025-р\_поволжье\_а) и МОН РФ (грант «Эколого-биологические и молекулярно-генетические аспекты состояния и функционирования*

*живых систем в крупных промышленных центрах Башкортостана»).*

### Список литературы

1. Гетко Н. В. Растения в техногенной среде : Структура и функция ассимиляционного аппарата. Минск. : Наука и техника, 1989. 208 с.
2. Илькун Г. М. Газоустойчивость растений. Киев : Наук. думка, 1971. 146 с.
3. Красинский Н. П. Значение изучения дымо-газоустойчивости растений для озеленения промплощадок и населенных пунктов // Дымоустойчивость растений и дымоустойчивые сортаменты. М. ; Горький : Горьковский университет, 1950. С. 1–9.
4. Кулагин Ю. З. Древесные растения и промышленная среда. М.: Наука, 1974. 125 с.
5. Николаевский В. С. Экологическая оценка загрязнения среды и состояния наземных экосистем методами фитоиндикации. Пушкино : ВНИИЛМ, 2002. 220 с.
6. Сергейчик С. А. Устойчивость древесных растений в техногенной среде. Минск : Наука і тэхніка, 1994. 279 с.
7. Клейн Р. М., Клейн Д. Т. Методы исследования растений. М. : Колос, 1974. 527 с.
8. Андреева Е. Н., Баккал, И. Ю., Горшков В. В. и др. Методы изучения лесных сообществ / НИИХимии. СПбГУ. СПб., 2002. 240 с.
9. Сукачев В. Н. Программа и методика биогеоценологических исследований. М. : Наука, 1966. 333 с.
10. Penka M. Types of the daily course of transpiration rate in seedlings of forest trees // Biologia Plantarum (Praha). 1967. Vol. 9, № 6. P. 407–415.

УДК 579.6

## ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРИОФАГА *AZOSPIRILLUM LIPOFERUM* ШТАММА SP 59B

С. С. Макарихина<sup>1</sup>, О. И. Гулий<sup>1</sup>, О. И. Соколов<sup>1</sup>, А. М. Буров<sup>1</sup>, С. А. Павлий<sup>2</sup>, О. Н. Сивко<sup>2</sup>, Д. Ю. Володин<sup>2</sup>, О. В. Игнатов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

<sup>2</sup>Саратовский государственный университет

E-mail: gulyi\_olga@mail.ru

Из микробных клеток *Azospirillum lipoferum* штамма SP59b выделен и описан бактериофаг (ЦАІ-Sp59b). На газоне индикаторного штамма Sp59b бактериофаг ЦАІ-Sp59b образует негативные колонии диаметром около 0,5 мм с ровными краями. Бактериофаг ЦАІ-Sp59b вызывает лизис бактерий *A. brasilense* штаммов Br 14, KR 77, S 17, S 27, Sp 245, *A. lipoferum* Sp 59b, SR 65 и RG 20a, *A. irakense* KA 3, но не инфицирует клетки *A. brasilense* штаммов Sp 7, Cd, Jm 6B2, SR 75, *A. irakense* KBC 1, *A. halopraeferans* Au 4, *A. amazonense* Am 14; не активен в отношении бактерий гетерологичных родов. Бактериофаг обладает устойчивостью к воздействию температуры, хлороформом, сохраняет активность при хранении при –4 °С в течение

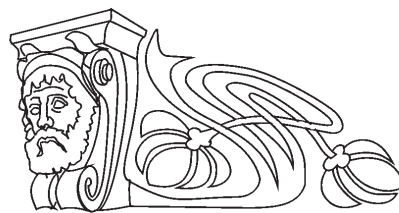
7 мес. Определена его принадлежность к семейству Podoviridae.

**Ключевые слова:** *Azospirillum brasilense*, бактериофаг, селективность.

### Isolation and Characterization of Bacteriophages from *Azospirillum Lipoferum* Strain SP 59B

S. S. Makarihina, O. I. Gulyi, O. I. Sokolov, A. M. Burov, S. A. Pavliy, O. N. Sivko, D. Yu. Volodin, O. V. Ignatov

Bacteriophage (ЦАІ-Sp59b) was isolated from microbial cells *Azospirillum lipoferum* strain SP59b and characterized. Bacteriophage







ЦАI-Sr59b on the lawn of indicator strain Sp59b can form negative colony diameter of about 0.5 mm with smooth edges. It is shown that the bacteriophage ЦАI-Sr59b causes lysis of bacterial *A. brasilense* strains Br 14, KR 77, S 17, S 27, Sp 245, *A. lipoferum* Sp 59b, SR 65 and RG 20a, *A. irakense* KA3, but do not infect cells of *A. brasilense* Sp 7, Cd, Jm 6B2, SR 75, *A. irakense* KBC 1, *A. halopraeferans* Au4, *A. amazonense* Am14. Bacteriophage ЦАI-Sp59b is not active against bacteria heterologous genera. Bacteriophage ЦАI-Sr59b highly lytical activity, high temperature resistance, and resistant to chloroform, remains active during storage at  $-4^{\circ}\text{C}$  for 7 months. ЦАI-Sp59b belongs to family Podoviridae.

**Key words:** *Azospirillum brasilense*, bacteriophages, specificity.

Бактериофаги микроорганизмов привлекают внимание исследователей из-за их повсеместного распространения, многообразия и важной экологической роли [1, 2]. Большинство исследований посвящены выделению и изучению бактериофагов патогенных микроорганизмов для их использования для диагностики и лечения инфекционных заболеваний. Вместе с тем, бактериофаги микроорганизмов, присутствующих в окружающей среде, представляют значительный интерес, поскольку напрямую влияют на численность микроорганизмов, находящихся в почве или природных водоемах [3, 4]. К почвенным бактериям, способствующим росту растений, относятся бактерии, принадлежащие к роду *Azospirillum*.

Существует весьма ограниченное количество работ, посвященным бактериофагам бактерий рода *Azospirillum*. Первые работы по выделению бактериофагов из клеток *Azospirillum* были опубликованы в 80-х гг. XX столетия [5–7]. В дальнейшем, после долгого перерыва, была опубликована статья французских исследователей, которыми были выделены и описаны бактериофаги из 24 штаммов 4 видов бактерий, принадлежащих к роду *Azospirillum* [8].

Целью данной работы являлось выделение бактериофага из культуры *Azospirillum lipoferum* Sp59b и изучение его свойств.

### Материалы и методы

В работе использовали микроорганизмы *A. brasilense* штаммов Sp 7, Cd, Sp 107, Sp 245, Jm 6B2, Br 14, KR 77, S 17, S 27, SR 55, SR 75, *A. amazonense* Am14, *A. halopraeferans* Au 4, *A. irakense* штаммов KBC 1, KA 3, *A. lipoferum* штаммов Sp 59b, SR 65, RG 20a, *Escherichia coli* штаммов B-878 и XL-1, *Pseudomonas putida* штаммов C-11 и BA-11, *Acinetobacter calcoaceticum*A-122, полученные из коллекции культур ИБФРМ РАН.

Культуры клеток хранили на чашках Петри с твердой агаризованной средой. Суточную культуру

получали путем посева с чашек Петри в колбу с жидкой LB-средой. Выращивание клеток осуществляли на круговой качалке при интенсивности перемешивания 160 об/мин при  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$  в течение 18–20 ч.

Суточную культуру клеток *Azospirillum lipoferum* Sp59b подвергали охлаждению в течение 2 ч при температуре  $+4^{\circ}\text{C}$ . После чего клетки осаждали центрифугированием при 6000 об/мин в течение 20 мин. К супернатанту, помещенному в стерильную посуду, добавляли полиэтиленгликоль (ПЭГ) 6000, NaCl (г/л): NaCl – 93.5 (1.6M), ПЭГ-6000 Panreac – 130 (2.5M), в количестве 1/5 объема супернатанта, затем колбу с супернатантом обкладывали льдом и помещали в холодильник при  $4^{\circ}\text{C}$  на 18–20 ч. По прошествии указанного времени суспензию центрифугировали при 13400 об/мин в течение 30 мин. Полученный осадок ресуспендировали в 1 мл ТЕ-буфера (Трис HCl, pH 8,0 – 10мM, EDTA – 1мM).

Морфологию негативных колоний бактерий, зараженных бактериофагами, изучали при посевах методом агаровых слоев (метод Грация) [9].

Диапазон литической активности и специфичности бактериофагов определяли методом нанесения бактериофага на газон гомологичных или гетерологичных бактериальных культур [9].

Результат считали положительным, если на месте нанесения фага на газоне сплошного роста культуры образовывалась прозрачная зона лизиса с вторичным ростом фагорезистентных микроорганизмов или без него.

Определение устойчивости бактериофага к воздействию высокой температуры проводили по методике [9], при этом бактериофаг подвергался воздействию высокой температуры от 50 до  $90^{\circ}\text{C}$  с шаговым интервалом в  $10^{\circ}\text{C}$ , при этом время воздействия составляло 30 мин. Активность бактериофагов определяли по методу Грация. В качестве контроля использовали культуру бактериофага без воздействия температуры. Результат учитывали на вторые сутки по изменению титра бактериофагов.

Определение устойчивости бактериофага к воздействию хлороформа проводили по методике [9], для этого бактериофаг обрабатывали хлороформом в соотношении 1:10 при постоянном перемешивании. При этом время воздействия хлороформа составляло 10, 20, 30 и 40 мин. Активность бактериофага определяли методом Грация.

Определение устойчивости бактериофага к воздействию разных значений pH проводили по методике [9]. Для этого на заключительном этапе выделения бактериофага использовали



ТЕ-буферный раствор с разными значениями pH: 5,5; 6,5; 8,5; 9,5, при этом время воздействия буферного раствора составляло 18–20 ч. Далее определяли активность исследуемого бактериофага методом двуслойного агара по Грация.

Определение изменения активности бактериофагов при хранении проводили по методике [9]. Бактериофаги хранились в 1 мл ТЕ-буфера (pH7,5) при температуре  $-4^{\circ}\text{C}$ , активность проверяли каждый месяц методом двуслойного агара по Грация.

Электронно-микроскопический анализ фаговых частиц полученных бактериофагов проводили на просвечивающем электронном микроскопе Libra 120 (Carl Zeiss, Германия) при ускоряющем напряжении 120 кВ.

Подготовку препаратов для электронной микроскопии проводили осаждением вирусных частиц в режиме низкоскоростного центрифугирования (концентрация фаговых частиц  $\sim 10^6$  частиц/мл), как описано [10]. Контрастирование осуществляли 1% УА в течение 5 мин.

### Результаты и их обсуждение

Поскольку бактерии рода *Azospirillum* являются модельным объектом в изучении ассоциативного взаимодействия и играют немаловажную роль в стимуляции роста растений, нами была предпринята попытка выделить бактериофаг из клеток бактерий *A. lipoferum* штамма Sp 59b и изучить его свойства, такие как: морфологию негативных колоний, спектр литической активности, температурную устойчивость, устойчивость к воздействию pH и хлороформа, изменение литической активности при хранении, морфологию фаговых частиц с помощью электронно-микроскопического исследования.

Первоначально исследовали данный штамм на наличие в нем профага. В первой серии опытов использовали методику, предложенную Д. М. Гольдфарбом (1961) [11], для выделения бактериофагов без воздействия индуцирующего фактора. В результате было установлено, что культура *A. lipoferum* Sp59b в опытах по выделению бактериофага без воздействия на клетки индуцирующего фактора не проявила лизогенных свойств. Далее с целью выделения бактериофага из клеток *A. lipoferum* Sp59b на культуру воздействовали индуцирующим фактором [11], при этом в качестве индуцирующего фактора использовали воздействие низкой температуры. После воздействия данного индуцирующего фактора из клеток бактерий *A. lipoferum* штамма Sp59b был выделен бактериофаг, который при-

нято обозначать как ЦА1-Sp59b [8]. Резюмируя полученные данные, можно утверждать, что у клеток *A. lipoferum* штамма Sp59b обнаружено явление лизогении.

На следующем этапе изучали биологические свойства выделенного бактериофага. Для определения морфологии негативных колоний высевали исследуемый бактериофаг в разведении  $10^{-7}$ – $10^{-9}$  на чашки Петри методом агаровых слоев по Грация [9]. Было показано, что бактериофаг ЦА1-Sp59b на газоне индикаторного штамма Sp59b образует округлые, с ровным четким краем, прозрачные негативные колонии одного типа диаметром около 0,5 мм.

Анализ выращенных культур после длительного культивирования (до 5 суток) показал, что пятна остаются прозрачными.

Литическая активность бактериофага оценивается по его способности вызывать лизис бактериальной культуры и выражается степенью максимального разведения, в котором испытуемый бактериофаг проявил свое литическое действие. Более точно оценить активность бактериофага можно путем определения количества активных корпускул вируса в единице объема. Активность исследуемого бактериофага составила приблизительно  $8,9 \times 10^{11}$  корпускул в 1 мл.

К биологическим свойствам бактериофага, имеющим важное практическое и теоретическое значение, относится диапазон литической активности – это спектр лизиса гомологичных фагов бактерий по серологической группе. Определение спектра литической активности проводили методом нанесения капель бактериофага на газон изучаемой культуры [9]. Изучение спектра литической активности бактериофага ЦА1-Sp59b определяли по отношению к 16 штаммам бактерий рода *Azospirillum*: *A. brasilense* Sp 7, Cd, Sp 245, Jm 6B2, Br 14, KR 77, S 17, S 27, SR 75, *A. halopraeferans* Au 4, *A. irakense* KBC 1, KA 3, *A. lipoferum* штаммов Sp 59b, SR 65 и RG 20a, *A. amazonense* Am 14. Результат считали положительным, если на месте нанесения фага на газоне сплошного роста культуры образовывалась прозрачная зона лизиса, и, соответственно, результат считали отрицательным при отсутствии лизиса. Было показано, что бактериофаг ЦА1-Sp59b проявляет активность в отношении клеток *A. brasilense* Br 14, KR 77, S 17, S 27, Sp 245, *A. lipoferum* штаммов Sp 59b, SR 65 и RG 20a, *A. irakense* KA3, но не инфицирует клетки *A. brasilense* штаммов Sp 7, Cd, Jm 6B2, SR 75, *A. Irakenze* KBC 1, *A. halopraeferans* Au 4, *A. amazonense* Am 14. Полученные результаты представлены в табл. 1.



Таблица 1

**Спектр литической активности ЦА1-Sp59b  
на газоне индикаторных культур**

Вид	Штамм	Лизис
<i>A. brasilense</i>	Sp7	-
	Cd	-
	SR75	-
	Sp245	-
	Br14	+
	KR77	+
	Jm6B2	-
	S17	+
	S27	+
<i>A. lipoferum</i>	Sp59b	+
	RG20a	+
	SR65	+
<i>A. irakense</i>	KBC1	-
	KA3	+
<i>A. halopraeferans</i>	Au 4	-
<i>A. amazonense</i>	Am 14	-
<i>Pseudomonas putida</i>	C-11	-
<i>P. putida</i>	BA-11	-
<i>Escherichia coli</i>	XL-1	-
<i>E. coli</i>	B-878	-
<i>Acinetobacter calcoaceticum</i>	A-122	-

Примечание. «+» – наличие лизиса бактериальной культуры; «-» – отсутствие лизиса бактериальной культуры.

Необходимым условием для применения бактериофагов в микробиологических целях является отсутствие литического действия в отношении гетерологичных бактерий (специфичность). В качестве гетерологичных культур использовали бактерии родов *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*. Выбор культур обусловлен близкими размерами с клетками азоспирилл (см. табл. 1). Установлено, что данный бактериофаг не вызывал лизис ни одной из испытываемых культур других видов бактерий. На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что бактериофаг ЦА1-Sp59b является не активным в отношении бактерий гетерологичных родов.

При изучении температурной устойчивости бактериофага ЦА1-Sp59b было показано, что прогревание до температуры +70 °С не оказало существенного влияния на его активность. На ос-

новании полученных результатов можно сделать вывод, что изучаемый бактериофаг ЦА1-Sp59b является термостабильным.

Согласно литературным данным [12], хлороформ может инактивировать некоторые бактериофаги. Поэтому изучали влияние хлороформа на активность бактериофага ЦА1-Sp59b, при этом было показано (табл. 2), что изучаемый бактериофаг проявил высокую устойчивость к воздействию хлороформа.

Таблица 2

**Устойчивость бактериофага ЦА1-Sp59b  
к воздействию хлороформа**

Время воздействия хлороформа, мин	Активность бактериофага после обработки хлороформом, количество активных корпускул в 1 мл
10	$8,1 \times 10^9$
20	$4,5 \times 10^9$
30	$3,8 \times 10^9$
40	$3,1 \times 10^9$
Контроль активности бактериофага	$4,0 \times 10^{10}$

При изучении влияния изменений значений pH буферного раствора на активность бактериофага ЦА1-Sp59b установлено, что бактериофаг ЦА1-Sp59b проявил высокую активность при значении pH буферного раствора в пределах от 5,5 до 9,5 (табл. 3). При этом следует отметить, что щелочная среда буферного раствора незначительно влияла на снижение активности изучаемого бактериофага. При этом нахождение бактериофага в кислой среде в большей степени отражалось на снижении его инфекционной способности.

Таблица 3

**Активность бактериофага ЦА1-Sp59b  
после воздействия буферного раствора  
с разными значениями pH**

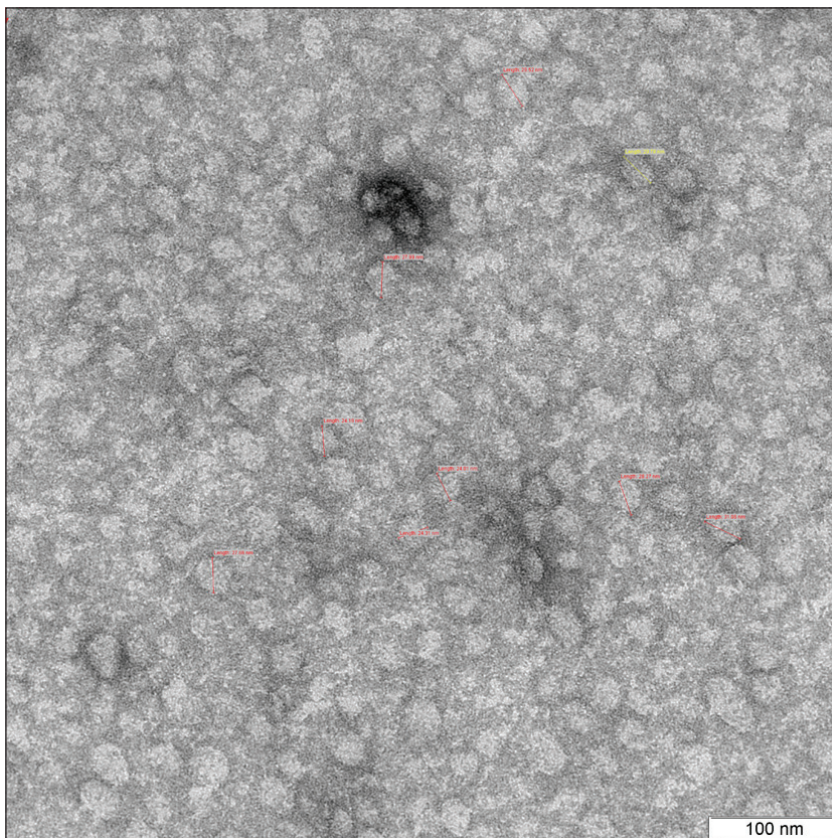
pH буферного раствора	Активность бактериофага, количество активных корпускул в 1 мл
5,5	$8,5 \times 10^9$
6,5	$9,3 \times 10^9$
7,5	$4,0 \times 10^{10}$
8,5	$7,6 \times 10^9$
9,5	$2,4 \times 10^{10}$
Контроль активности бактериофага	$4,0 \times 10^{10}$



При изучении сохранения активности бактериофага ЦА1-Sp59b в процессе хранения было показано, что бактериофаг ЦА1-Sp59b сохраняет активность в течении 7 месяцев, при этом титр бактериофага за этот период снижался от  $5,2 \times 10^8$  до  $6,5 \times 10^6$  фаговых частиц/мл.

Для определения систематического положения выделенного бактериофага проводилось его электронно-микроскопическое исследование. В результате было установлено (рисунок), что

вирусные частицы имеют сферическую головку размером около 30 нм и короткий хвостовой отросток размером до 10 нм. В соответствии с морфологическими параметрами, бактериофаг ЦА1-Sp59b, предположительно, согласно Международной классификации и номенклатуре вирусов относится к семейству Podoviridae [13], а по классификации А. С. Тихоненко – ко II морфологической группе «Фаги с аналогом отростка» [14].



Электронно-микроскопическое изображение бактериофага ЦА1-Sp59b. Масштаб 100 нм (увеличение 40 000)

Таким образом, из микробных клеток *A. lipoferum* штамма Sp 59b с использованием индуцирующего – фактора низкой температуры – выделен бактериофаг ЦА1-Sp59b, изучены его биологические свойства. Основываясь на полученных данных, можно утверждать, что у клеток *A. lipoferum* штамма Sp59b обнаружено явление лизогении. Бактериофаг ЦА1-Sp59b на газоне индикаторного штамма Sp59b образует негативные колонии диаметром около 0,5 мм с ровными краями, которые сохраняют прозрачность до 5 суток. Показано, что бактериофаг ЦА1-Sp59b вызывает лизис гомологичных бактерий

*A. brasilense* штаммов Br 14, KR 77, S 17, S 27, Sp 245, *A. lipoferum* штаммов Sp 59b, SR 65 и RG 20a, *A. irakense* KA 3, но не инфицирует клетки *A. brasilense* Sp 7, Cd, Jm 6B2, SR 75, *A. irakense* KBC 1, *A. halopraeferans* Au 4, *A. amazonense* Am 14. Бактериофаг ЦА1-Sp59b является не активным в отношении бактерий гетерологичных родов. Изучаемый бактериофаг обладает высокой температурной устойчивостью до 90 °С, сохраняет высокую активность при значении рН буферного раствора в пределах от 5,5 до 9,5, устойчивость к воздействию хлороформом в течение 40 мин, сохраняет активность в процессе хранения при –



4 °С в течение 7 мес. Определена принадлежность бактериофага ЦА1-Sp59b к семейству Podoviridae согласно Международной классификации и номенклатуре вирусов, по классификации А. С. Тихоненко (1968) – к II морфологической группе «Фаги с аналогом отростка».

*Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение № 8852) и РФФИ (гранты № 10-02-01313а и 12-02-01057а).*

### Список литературы

1. Kropinski A. M., Clokie M. R. J. Bacteriophages : Methods and protocols. Vol. 1: Isolation, characterization and interaction. Humana Press, a part of Springer Science + Business Media, LLC. 2009. Vol. 501. P. 307.
2. Dwivedi B., Schmieder R., Goldsmith D. B., Edwards R. A., Breitbart M. PhiSiGns: an online tool to identify signature genes in phages and design PCR primers for examining phage diversity // BMC Bioinformatics. 2012. Vol.13. P. 37.
3. Ashelford K. E., Norris S. J., Fry J. C., Bailey M. J., Day M. J. Seasonal population dynamics and interactions of competing bacteriophages and their host in the rhizosphere // Appl. Environ. Microbiol. 2000. Vol. 66, № 10. P. 4193–4199.
4. Romero-Suarez S., Jordan B., Heinemann J.A. Isolation and characterization of bacteriophages infecting Xanthomonas arboricola pv. juglandis, the causal agent of walnut blight disease // World J. Microbiol. Biotechnol. 2012. Vol. 28, № 5. P. 1917–1927.
5. Elmerich C., Quiviger B., Rosenberg C., Franche C., Laurent P., Dübener J. Characterization of a temperate bacteriophage for *Azospirillum* // Virology. 1982. Vol. 122. P. 29–37.
6. Ewing B., Hillier L., Wendl M. C., Green P. Base-calling of automated sequencer traces using phred. I. Accuracy assessment // Genome Res. 1998. Vol. 8. P. 175–185.
7. Germida J. J. Spontaneous induction of bacteriophage during growth of *Azospirillum brasilense* in complex media // Can. J. Microbiol. 1984. Vol. 30. P. 805–808.
8. Boyer M., Haurat J., Samain S., Segurens B., Gavory F., González V., Mavingui P., Rohr R., Bally R., Wisniewski-Dyū F. Bacteriophage prevalence in the genus *Azospirillum* and analyses of the first genome sequence of an *Azospirillum brasilense* integrative phage // Appl. and Environ. Microbiology. 2008. Vol. 74, № 3. P. 861–874.
9. Адамс М. Бактериофаги. М. : Изд-во Иностран. лит., 1961. 272 с.
10. Ackermann H.-W. Bacteriophages Methods and Protocols: Isolation, Characterization, and Interaction / ed. M. R. J. Clokie, A. M. Kropinski. Humana Press, 2005. Vol. 1. P. 113 H.-W.126.
11. Гольдфарб Д. М. Бактериофагия. М. : Медгиз, 1961. 299 с.
12. Феоктистова Н. А. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов рода *Proteus*, конструирование на их основе биопрепарата и разработка параметров практического применения : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2006. 166 с.
13. Ackermann H.-W. 5500 phages examined in the electron microscope // Arch. Virol. 2007. Vol. 152. P. 227–243.
14. Тихоненко А. С. Ультраструктура вирусов бактерий. М. : Наука, 1968. 170 с.

УДК 612.821.3

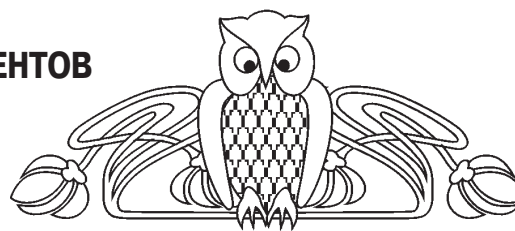
## ВЛИЯНИЕ СЕНСОРНОЙ АСИММЕТРИИ НА МЫСЛИТЕЛЬНЫЕ СПОСОБНОСТИ СТУДЕНТОВ РАЗНОГО ПРОФИЛЯ ОБУЧЕНИЯ

Е. М. Зинченко, Е. Ю. Лыкова

Саратовский государственный университет  
E-mail: Odonata1108@yandex.ru

Функциональная межполушарная асимметрия мозга является одной из интереснейших проблем в современной науке. Влияние профиля латеральной организации мозга на различные аспекты жизни многогранно и недостаточно изучено. Учитывая, что информация, поступающая от анализаторов, обрабатывается двумя полушариями, было интересно рассмотреть действие сенсорной асимметрии на когнитивные способности студентов.

**Ключевые слова:** сенсорная асимметрия, когнитивные способности, вербальный и невербальный интеллект, студенты, профиль обучения.



### Effect of Sensory Asymmetry on Cognitive Abilities of Students Different Profiles of Training

E. M. Zinchenko, E. Yu. Lykova

Functional hemispheric asymmetry of the brain is one of the most interesting problems in modern science. Influence the profile of the lateral organization of the brain to different aspects of life is multifaceted and not well understood. Considering that information from the analyzers processed by two hemispheres, it was interesting to



consider the touch of asymmetry on cognitive abilities of students.

**Key words:** sensory asymmetry, cognitive abilities, verbal and non-verbal intellect, students, profile of training.

В современной науке о мозге проблема функциональной межполушарной асимметрии является одной из наиболее сложных и в то же время актуальных. Функциональная межполушарная асимметрия (ФМА) один из наиболее важных факторов неспецифической резистентности. Обеспечение адаптационных процессов в организме происходит, в первую очередь, нервным путём регуляции его функций [1].

ФМА, по существу, обозначает устойчивое различие функций в симметричных образованиях головного мозга [2].

У правой, то есть у лиц с более развитой правой рукой, в левом полушарии находятся слуховой и двигательный центры речи, обеспечивающие восприятие устной и формирование устной и письменной речи. Кроме того, левое полушарие ответственно за осуществление математических операций и процессов мышления. Левое полушарие технологично [3, 4].

Правое полушарие отвечает за узнавание человека по голосу и за восприятие музыки. Оно выполняет ведущую роль в узнавании человеческих лиц и ответственно за музыкальное и художественное творчество. Хотя в последнее время установлено, что восприятие цветов у левого полушария аналогично правому. Таким образом, правое полушарие участвует в процессах образного мышления, отвечает за интуицию [3, 5].

Специализация полушарий головного мозга определяется по способу обработки информации. В свою очередь, интеллект представляет собой систему всех познавательных способностей [6].

Г. Ю. Айзенк, в частности, отмечает, что интеллект человека может быть представлен в виде трех составляющих его форм: биологический, психометрический и социальный. Биологический интеллект определяется морфофизиологической организацией головного мозга, в природе которой важную роль играет генетический фактор. Психометрический интеллект – это то, что измеряется тестами IQ, и социальный интеллект – то, что определяет способности каждого человека к социальной адаптации. И если две последние формы интеллекта в большой степени зависят от факторов среды (воспитание, образование и т.д.), то биологический интеллект служит физиологической, нейрологической, биохимиче-

ской и гормональной основой познавательного поведения [7, 8].

В результате исследований было сформулировано определение индивидуального профиля функциональной асимметрии, под которым понимается присущее каждому данному субъекту определенное сочетание асимметрий [9, 10].

В настоящее время активно изучается влияние различных факторов на становление мыслительных особенностей. Так, например, у детей интеллектуальные способности определяют с учетом принадлежности к той или иной возрастной группе и успешности их обучения в школе, у студентов – в зависимости от специфики обучения. Прослеживается развитие когнитивных способностей в динамике. Имеются работы, которые отражают взаимосвязь между индивидуальной межполушарной организацией и успешностью в профессиональной деятельности [6, 11–13].

В связи с этим целью исследования явилось изучение интеллектуальных способностей студентов с разным профилем профессиональной ориентации.

Исследование проводилось в СГУ, РГСУ и СГК. Обследовалось 232 студента, обучающихся на биологическом, механико-математическом, химическом, историческом, психологическом и театральном факультетах. У всех обследуемых определяли на основании выявления ведущих глаза и уха тип профиля сенсорной асимметрии [14]. Для изучения особенностей интеллектуальных способностей использовался тест Векслера [15]. Все результаты исследований были подвергнуты статистической обработке [16].

Обследуемые были разделены на 2 группы: 1-я группа – естественники (62,5%), 2-я группа – гуманитарии (37,5%).

На основании функциональных проб в каждой группе было выявлено 3 типа сенсорного фенотипа: 1-й тип – правый (37% естественников и 40% гуманитариев), 2-й тип – левый (8% естественников и 8% гуманитариев), 3-й тип – амбидекстр (55% естественников и 52% гуманитариев). Распределение по сенсорному фенотипу студентов-естественников и гуманитариев было сходным, большинство обследуемых имеют смешанный сенсорный фенотип.

Тест Векслера включает в себя задания, характеризующие уровень развития вербального и невербального интеллекта. В ходе тестирования были обнаружены различия в выполнении заданий, определяющих вербальный интеллект (табл. 1).



Таблица 1

**Вербальные способности студентов, баллы**

Задание	Естественники			Гуманитарии		
	1-й тип (1)	2-й тип (2)	3-й тип (3)	1-й тип (4)	2-й тип (5)	3-й тип (6)
Общая осведомленность	11.7±0.24	11.0±0.41	11.4±0.19	13.0±0.24 *▲○	13.0±0.48 *▲○	12.5±0.27 *▲○
Общая понятливость	10.4±0.33	10.1±0.72	10.3±0.26	10.5±0.33	11.1±0.32	10.8±0.34
Арифметический тест	10.1±0.15	9.4±0.41	9.8±0.12	10.3±0.16 ○	10.7±0.32 ▲○	10.0±0.17
Нахождение сходств	12.2±0.21	12.1±0.31	12.5±0.23	13.0±0.20 *▲	13.9±0.64 *▲	13.0±0.21 *▲
Повторение цифр	11.7±0.39	10.5±0.82	11.2±0.35	9.9±0.45 *○	10.9±0.81	10.4±0.41 *
Словарный запас	12.6±0.24	13.3±0.52	12.7±0.21	12.9±0.24	13.4±0.48	12.6±0.31
Вербальный IQ	68.8±0.97	66.3±2.16	67.8±0.77	69.6±0.89	73.0±0.64 *▲○□	69.4±0.96 +

Примечание. \* –  $p < 0.05$  относительно 1-й группы; ▲ –  $p < 0.05$  относительно 2-й группы; ○ –  $p < 0.05$  относительно 3-й группы; □ –  $p < 0.05$  относительно 4-й группы; + –  $p < 0.05$  относительно 5-й группы.

Так, студенты гуманитарного профиля существенно лучше справились с субтестом, отвечающим за интеллигентность человека («Общая осведомленность») ( $p < 0,05$ ). Гуманитарии характеризуются широтой познавательных интересов и эрудированностью. Однако около 50% студентов выполнили это задание на низком уровне. Вопросы, вызвавшие затруднения, в основном касались географии и литературы. Так, например, на вопрос «Где расположена Бразилия?» были предложены следующие варианты ответов: в Северной Америке, в Азии, Бразилия является островом. А на вопрос, где нужно было назвать автора «Илиады», были представлены следующие имена: Софокл и Одиссей. Это говорит о том, что у студентов отсутствуют базовые знания, которые они должны были получить еще в школе.

Студенты-естественники с левым и смешанным фенотипом хуже выполнили задание по сравнению с гуманитариями с латеральным профилем, характеризующее уровень развития произвольной концентрации внимания («Арифметический тест») ( $p < 0,05$ ). Студенты гуманитарного профиля обучения получили достоверно более высокие баллы по результатам субтеста, в психофизиологической структуре которого логическое мышление и способность к абстрагированию («Нахождение сходств») ( $p < 0,05$ ).

Субтест «Повторение цифр», в основе которого лежит вербально-мнестическая деятельность,

выполнялся у обследуемых 1-й группы с правым и смешанным фенотипами с более высоким качеством, и показатели его выполнения значимо ( $p < 0,05$ ) различались по сравнению с данными студентов из 2-й группы. Студенты естественных факультетов способны быстро и активно сосредоточиваться на интересующем объекте, что возможно лишь при наличии высокой степени концентрации внимания [17]. Но стоит также отметить, что было выявлено несколько человек, результаты которых по данному заданию приближаются к нулю.

По итогам теста, который характеризует умение давать определение понятиям («Словарный запас»), достоверных различий не выявлено. Однако от 40 до 60% лиц выполнили это задание на низком уровне. Этот субтест вызвал у многих студентов затруднения. По мнению испытуемых, тирада – это ряд или конфетти; плагиат – тот, кто много знает; бедствие – это нашествие. Трудности свидетельствуют о недостаточной сформированности умения оперировать понятиями.

Таким образом, с заданиями по вербальному интеллекту значительно лучше справилась группа гуманитариев. Гуманитарии хорошо владеют языком, имеют богатый словарный запас, умеют правильно его использовать, точно соотносить конкретные и абстрактные понятия и имеют в целом высокоразвитое абстрактное мышление [17].



Также были выявлены различия в выполнении заданий, определяющих невербальный компонент интеллектуального развития (табл. 2).

Студенты гуманитарного профиля с правым фенотипом показали лучшие результаты, чем другие студенты в задании, характеризующем уровень зрительно-моторной координации («Шифровка») ( $p < 0,05$ ). Это связано с тем, что большую роль в развитии этих способностей играет левое полушарие. Обследуемые 1-й группы существенно хуже справились с тестами, в психо-

физиологической структуре которых способность восприятия мира («Недостающие детали») и составление целого из элементов («Складывание фигур») ( $p < 0,05$ ). Однако встречаются молодые люди (у гуманитариев с левым профилем их число достигает 70%), у которых получены результаты ниже среднего. Исходя из этого можно сказать, что у этих лиц снижено зрительное восприятие.

Относительно невербального и общего интеллекта следует отметить, что достоверных различий выявлено не было.

Таблица 2

Невербальные способности студентов, баллы

Задание	Естественники			Гуманитарии		
	1-й тип (1)	2-й тип (2)	3-й тип (3)	1-й тип (4)	2-й тип (5)	3-й тип (6)
Шифровка	11.1±0.39	10.8±0.52	10.8±0.23	12.1±0.45 ○	10.4±0.48 □	11.1±0.41
Недостающие детали	11.8±0.36	12.1±0.93	11.3±0.30	14.0±0.28 ▲○	14.3±0.48 *○	12.6±0.24 ○□+
Послед.картинки	9.0±0.30	9.3±0.52	9.3±0.26	9.5±0.24	9.6±0.32	9.8±0.27
Складывание фигур	9.9±0.24	9.5±0.56	10.2±0.27	10.5±0.16 *	11.1±0.64	11.1±0.21 *▲○□
Кубики Косса	11.8±0.40	12.6±0.67	12.7±0.20 *	13.0±0.71	13.2±0.45	13.4±1.21
Невербальный IQ	51.9±1.00	53.0±2.25	53.0±0.74	52.0±2.05	53.2±0.85	55.6±3.88
Общий IQ	117.1±1.3	117.9±3.71	118.1±1.3	119.9±2.45	120.1±1.5	125.8±5.34

Примечание.\* –  $p < 0,05$  относительно 1-й группы; ▲ –  $p < 0,05$  относительно 2-й группы; ○ –  $p < 0,05$  относительно 3-й группы; □ –  $p < 0,05$  относительно 4-й группы; + –  $p < 0,05$  относительно 5-й группы.

Таким образом, общий анализ интеллектуального развития у исследованных студентов позволяет сделать вывод, что познавательные функции, составляющие вербальную и невербальную структуру интеллектуального профиля, не зависят от профиля обучения.

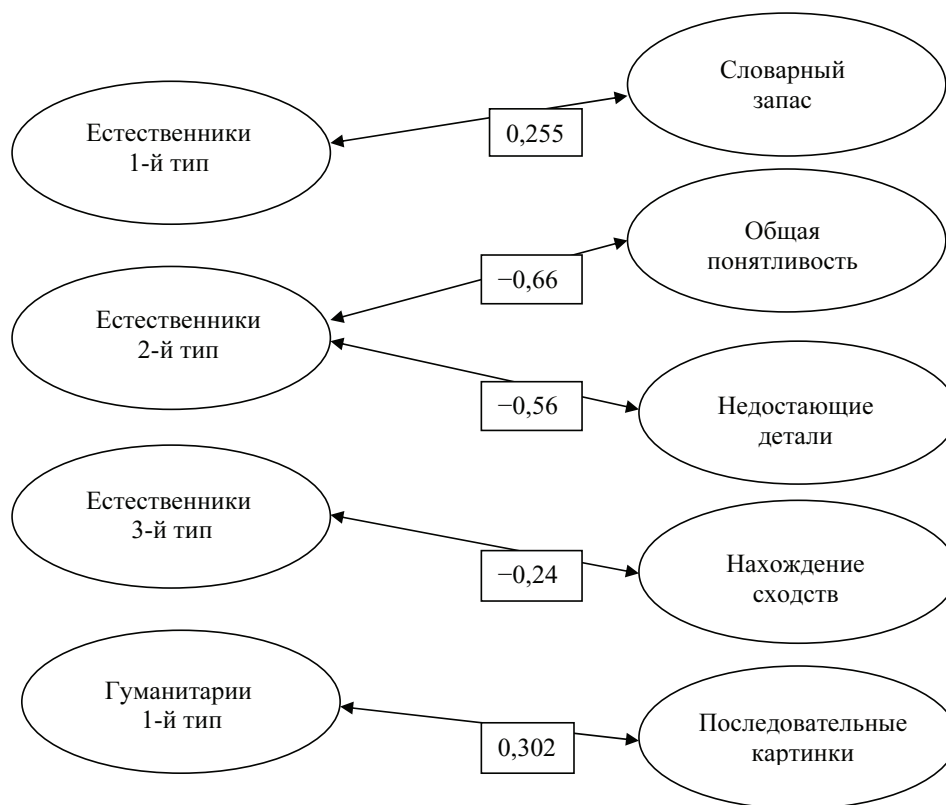
Корреляционный анализ вербального и невербального компонентов и показателей профиля латеральной организации мозга (ПЛО) является важной характеристикой взаимосвязей когнитивных способностей с асимметрией мозга. Характер корреляционных связей у студентов с разным сенсорным фенотипом различается по структуре и количеству значимых коэффициентов корреляции (рисунок).

Студенты естественного профиля обучения с правым фенотипом характеризуются низким уровнем взаимосвязи показателей субтеста «Словарный запас» со значениями ПЛО  $r = 0,255$ . Но

следует отметить, что степень развития именно левого полушария определяет успешность выполнения такого рода заданий.

Для студентов с левым профилем характерна высокая степень корреляции результатов задания «Понятливость», которое отражает способность к построению развернутого высказывания, с показателями ПЛО  $r = -0,660$ . Данное значение подтверждает, что левое полушарие играет ведущую роль в развитии вербальных способностей, что согласуется с литературными данными [4]. У этих же студентов обнаружена близкая к значимой корреляция показателей и с тестом «Недостающие детали» ( $r = -0,563$ ). Это свидетельствует о значимой роли вербальной составляющей при выполнении перцептивных задач. (Следует отметить, что данный тип тестового задания определяет уровень сформированности регулирующей функции внутренней речи.)





Корреляционные связи между показателями интеллекта и показателями ПЛО

Корреляция показателей ПЛО студентов со смешанным сенсорным фенотипом и субтестом «Нахождение сходств», выявляющим уровень речевого развития и запас сведений и знаний, характеризуется средней по тесноте связью:  $r = -0,243$ . Таким образом, сенсорная асимметричность сказывается не лучшим образом на выполнении такого теста, хотя информация, поступающая через сенсорные рецепторы, обрабатывается двумя полушариями.

Для гуманитариев характерен единичный случай взаимосвязи параметров интеллекта с показателями ПЛО. Так, найденный коэффициент корреляции для показателей ПЛО и данных теста «Последовательные картинки», который характеризует способность составления целого из компонентов, приближается к 5%-ному уровню значимости,  $r = 0,302$ . Следовательно, успешность выполнения этого субтеста зависит от развития импрессивной речи и понимания логическо-грамматических конструкций. Это еще раз подтверждает, что способности левого полушария отражаются на результатах выполнения невербальных заданий.

Итак, наличие зависимостей показателей ПЛО с показателями когнитивных способностей

больше характерно для студентов естественного профиля обучения.

Таким образом, зная интеллектуальные особенности студентов с разным типом сенсорной асимметрии, можно корректировать методы обучения для оптимизации учебного процесса.

### Список литературы

1. Петросиенко Е. С. Влияние межполушарной асимметрии на активность функционирования сердечно-сосудистой системы как меры напряжения сердечных адаптационных механизмов // Асимметрия. 2011. Т. 5, № 3. С. 15–22.
2. Фокин В. Ф., Пономарева Н. В., Городенский Н. Г., Иващенко Е. И., Разыграев И. И. Функциональная межполушарная асимметрия и асимметрия межполушарных отношений // Системный подход в физиологии. 2004. № 12. С. 111–127.
3. Хомская Е. Д. Нейропсихология. СПб.: Питер, 2005. 496 с.
4. Chan D., Anderson V., Pijnenburg Y. et al. The clinical profile of right temporal lobe atrophy // Brain. 2009. Vol. 132, № 5. P. 1287–1298.
5. Danilova M. V., Mollon J. D. Parafoveal color discrimination: A chromaticity locus of enhanced discrimination // J. of Vision. 2010. Vol. 10, № 1. P. 1–9.

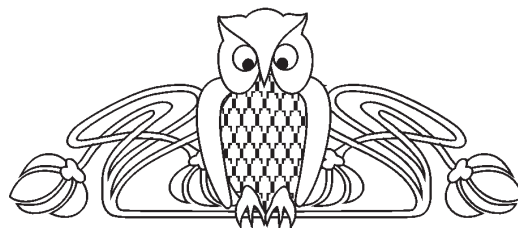


6. Ушаков Д. В. Тесты интеллекта, или горечь самопознания // Психология. Журнал Высшей школы экономики. 2004. Т. 1, № 2. С. 76–93.
7. Айзенк Г. Ю. Понятие и определение интеллекта // Вопр. психологии. 1995. № 1. С. 111–131.
8. Бондаренко В. Ф., Гункин В. А., Опрышко Н. С. Определение корреляций между величиной показателя IQ и временем простых сенсомоторных реакций на слуховые и зрительные стимулы / Балтийский федеральный университет им. Имманула Канта (г. Калининград). URL: <http://tele-conf.ru> (дата обращения: 05.05.2011).
9. Быканова М. А., Пизова Н. В. Болезнь Паркинсона и функциональная асимметрия // Асимметрия. 2012. Т. 6, № 1. С. 4–12.
10. Силина Е. А., Евтух Т. В. Межполушарная асимметрия и индивидуальные различия : учебник для вузов. Пермь : Изд-во Перм. гос. ун-та. 2005. 132 с.
11. Безруких М. М., Логинова Е. С. Возрастная динамика и особенности формирования психофизиологической структуры интеллекта у учащихся начальной школы с разной успешностью обучения // Физиология человека. 2006. Т. 32, № 1. С. 15–25.
12. Бурькин К. Н. Лонгитюдное исследование характеристик познавательной сферы студентов СГА // Когнитивные и личностные факторы учебной деятельности. М. : Изд-во СГА, 2007. С. 10–19.
13. Безруких М. М., Логинова Е. С. Интеллектуальное развитие детей 6–7 лет с дефицитом внимания и гиперактивностью // Экология человека. 2010. Т. 11. С. 40–46.
14. Брагина Н. Н., Доброхотова Т. А. Функциональная асимметрия человека. М. : Медицина, 1988. 240 с.
15. Кинякина О. Н. Мозг на 100%. Интеллект. Память. Креатив. Интуиция. Интенсив-тренинг по развитию суперспособностей. М. : Эксмо, 2007. 848 с.
16. Лакин Г. С. Биометрия. М. : Высшая школа, 1990. 352 с.
17. Педагогика и психология высшей школы : учеб. пособие / под ред. М. В. Булановой-Топорковой. Ростов н/Д : Феникс, 2002. 544 с.

УДК 574.24:351.777.61

## ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЛЕЙ МОНОЭТАНОЛАМИНА

М. А. Григорович<sup>1</sup>, Б. И. Кудрин<sup>1</sup>, О. М. Плотникова<sup>2</sup>,  
А. Н. Евдокимов<sup>1</sup>, Е. Н. Сосновских<sup>1</sup>



<sup>1</sup>Региональный центр экологического контроля и мониторинга объекта по уничтожению химического оружия по Курганской области  
E-mail: [kurgan-rc@yandex.ru](mailto:kurgan-rc@yandex.ru)

<sup>2</sup>Курганский государственный университет  
E-mail: [plotnikom@yandex.ru](mailto:plotnikom@yandex.ru)

Выявлена низкая токсичность солей уксусной, лимонной и янтарной кислот и моноэтаноламина (МЭА). Интрагастральное введение белым лабораторным мышам нейтральных растворов солей органических кислот МЭА не вызывало поражения слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки. Смерть животных наступала, преимущественно, от интоксикации анионами изученных кислот. Из испытанных растворов солей МЭА максимальной токсичностью обладал цитрат МЭА, меньшей токсичностью – ацетат и сукцинат МЭА.

**Ключевые слова:** органические соли моноэтаноламина, острая токсичность, белые лабораторные мыши.

### Acute Toxicity of Some Monoethanolamine Organic Salts

М. А. Grigorovich, B. I. Kudrin, O. M. Plotnikova,  
A. N. Evdokimov, E. N. Sosnovskih

Revealed low toxicity of salts of acetic, citric, and succinic acids and monoethanolamine (MEA). Intragastric administration of white laboratory mice neutral solutions of salts of organic acids MEA did not cause

mucosal lesions of gastric and duodenal ulcers. Death of animals comes mainly from toxic anions studied acids. Of the tested salt solutions MEA maximum toxicity possessed citrate MEA, reduced toxicity – acetate and succinate MEA.

**Key words:** organic monoethanolamine salts; acute toxicity; white laboratory mice.

Аминоспирт моноэтаноламин (МЭА; 2-аминоэтанол, коламин) широко используется в различных сферах хозяйствования: при производстве антибиотиков и косметических средств, лаков и эмульсий, поверхностно-активных веществ, а также в качестве антикоррозионного средства, поглотителя кислых газов, основного реагента при гидролизе фосфорорганических отравляющих веществ зарина и зомана.

Моноэтаноламин как вещество второго класса опасности [1] в высоких концентрациях в окружающем воздухе в виде паров и аэрозоля или



при прямом попадании на кожу и слизистые вызывает у экспериментальных животных раздражение кожных покровов, слизистой дыхательных путей и конъюнктивы глаз [2]. В умеренных дозах МЭА при многократном введении в организм животных приводит к изменениям в печени, почках, сердце, центральной нервной системе [3–5]. Однако малые дозы МЭА применяют для стимуляции прироста массы тела в животноводстве и птицеводстве [6, 7].

При антропогенном загрязнении почвы и воды моноэтаноламин как сильное основание быстро нейтрализуется и в пищевую цепочку может попадать преимущественно в виде минеральных или органических солей. Естественно, что поступление в малых дозах в организм человека и животных солей МЭА может осуществляться перорально и при определенных условиях длительно. Исследования влияния МЭА на организм млекопитающих усложняются тем, что МЭА в малых дозах является жизненно необходимым для поддержания нормального обмена веществ, так как участвует в синтезе входящего в состав липопротеидных мембран клеток фосфатидилэтаноламина (кефалина). Моноэтаноламин обнаруживается в норме в моче млекопитающих и человека [8].

Острая токсичность солей МЭА для млекопитающих практически не изучена. Ранее нами была исследована острая токсичность растворов МЭА и некоторых его минеральных солей при интрагастральном введении белым лабораторным мышам [9]. Эти исследования показали, что острая токсичность МЭА при пероральном введении мышам (медианная летальная доза  $LD_{50}$  1760 мг/кг) была обусловлена высоким значением рН его растворов, что вызывало изъязвления слизистой верхнего отдела желудочно-кишечного тракта, кровотечения, развитие болевого шока и гибель животных. Интрагастральное введение нейтрализованных минеральными кислотами МЭА (гидрохлорида, сульфата, нитрата МЭА) не вело к поражению слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, не вызывало кровотечений и болевого шока. В этих случаях рассчитанная по результатам опытов медианная летальная доза выявила низкую острую токсичность моноэтаноламина в виде катиона. Так,  $LD_{50}$  из расчета на катион моноэтаноламмония для хлорида МЭА составила 4590 мг/кг [10]. Сведения о токсичности органических солей МЭА и возможном их негативном влиянии на организм теплокровных в литературе отсутствуют.

Целью данной работы явилось исследование острой токсичности некоторых органических солей моноэтаноламина путем определения уровня  $LD_{50}$  при интрагастральном введении растворов белым лабораторным мышам (*Mus musculus* L.).

#### Материалы и методы исследования

В качестве солеобразующих кислот использовали уксусную, янтарную и лимонную, т.е. одно-, двух- и трехосновные кислоты.

Растворы солей МЭА готовили из химически чистых реактивов фирм «Нева-реактив» (Санкт-Петербург) и «Лаверна» (Москва). Нейтрализация моноэтаноламина была достигнута при следующих молярных соотношениях компонентов: МЭА – 1,00, уксусная кислота – 1,06, янтарная – 0,48, лимонная – 0,30, что в процентном отношении к расчетному количеству составило 106, 96 и 91% соответственно.

Эксперименты проводились на 144 самках белых лабораторных мышей линии СВА весом 25–30 г, содержащихся в условиях аттестованного вивария. Все работы с лабораторными мышами проводили согласно принципам гуманного отношения к животным в соответствии с международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований [11] и правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных [12].

Животные были разбиты на 3 группы, которым интрагастрально вводили соответствующие дозы солей МЭА в виде водных растворов объемом 1,0 мл. Для сравнения результатов вводимые дозы указаны в пересчете на катион моноэтаноламмония (МЭА-катион). Первой группе ( $n = 56$ ) вводили растворы лимоннокислого МЭА (МЭА-цитрата) в дозах 3500, 3700, 4000, 4300 и 4500 мг/кг; второй группе ( $n = 40$ ) – растворы уксуснокислого МЭА (МЭА-ацетата) в дозах 3000, 3300, 3500, 3700, 4000, 4300 и 4500 мг/кг; третьей группе ( $n = 48$ ) – растворы янтарнокислого МЭА (МЭА-сукцината) в дозах 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500 и 7000 мг/кг. Контрольными значениями ко всем сериям опытов служили полученные нами ранее [9] значения  $LD_{50}$  при интрагастральном введении мышам растворов МЭА ( $pH > 11,0$ ).

В основу вычислений  $LD_{50}$  положен аналитический метод описания способом наименьших квадратов линейной зависимости между логарифмами доз и пробитами (пробит-анализ), соответствующими наблюдаемым в опыте эффектам токсичности каждой из доз исследуемых солей.



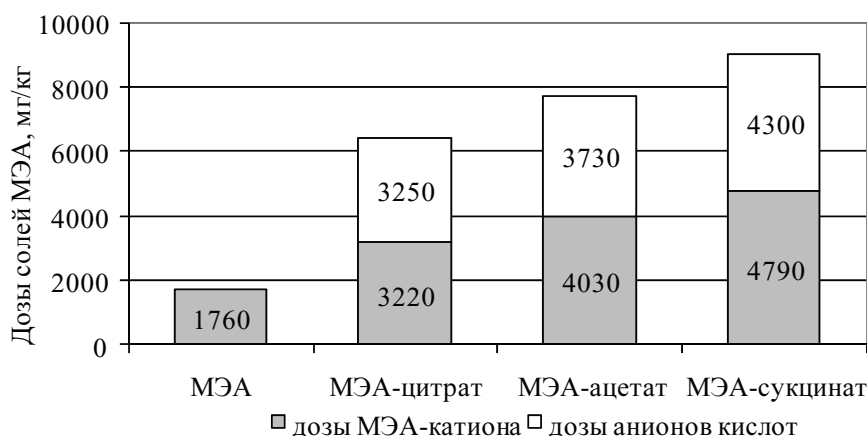
Дозы, не вызывающие летального исхода или вызывающие 100% летальный исход, в расчеты не брались. Компьютерная обработка экспериментальных данных проводилась по программе расчетов полулетальной дозы, разработанной научно-исследовательской клинико-диагностической лабораторией ВНМУ им. Н. И. Пирогова Института химии поверхности НАН Украины [13].

### Результаты и их обсуждение

Органические кислоты, взятые для исследования, обладают низкой токсичностью и допущены в качестве пищевых добавок Е-260, Е-363, Е-330, соответственно уксусная, янтарная и лимонная, а также выполняют важнейшую роль в метаболизме. Ацетат в виде ацетил-КоА включается в цикл трикарбоновых кислот, синтез жирных кислот. Цитрат-анион – начальный метаболит цикла трикарбоновых кислот (цитратный цикл), играет важную роль в системе клеточного дыхания организма, обладает свойством связывать ионы  $Ca^{2+}$ , что при чрезмерном снижении уровня ионизированного кальция в крови может привести к повышенной нервной и мышечной возбудимости с последующим развитием судорог. Уникальная роль сукцината заключается во включении в цикл Кребса на заключительных этапах – на стадии его окисления в фумаровую кислоту, а по скорости транспорта водорода и электронов в дыхательную цепь митохондрий печени он превосходит другие субстраты на 1–2 порядка [14].

В первой группе животных после введения МЭА-цитрата двигательная активность оставалась нормальной. Гибель части мышей, получивших высокие дозы препарата, наступала в течение первых часов на фоне приступов тетанических судорог. Во второй группе животных после введения в желудок МЭА-ацетата наблюдалось снижение двигательной активности, мыши сбивались в кучу, дремали, судорог не наблюдалось. Часть животных, получивших высокую дозу препарата, погибала уже в течение первых часов после интрагастрального введения. В третьей группе мышей после введения МЭА-сукцината двигательная активность в первые часы после инъекции была понижена. В последующем, если животное не погибало от высокой дозы препарата, двигательная активность постепенно полностью восстанавливалась к концу первых суток. У погибших животных всех трех групп исследования на вскрытии были обнаружены аналогичные явления гиперемии пилорической части желудка и двенадцатиперстной кишки. При этом эрозий и кровоизлияний в стенках желудка и двенадцатиперстной кишки обнаружено не было. В других внутренних органах всех погибших животных также не было выявлено каких-либо макроскопических изменений.

Для значений  $LD_{50}$ , рассчитанных по дозе МЭА для каждой из солей (рисунок), показано, что медианная летальная доза МЭА, нейтрализованного органическими кислотами, значительно выше, чем у моноэтаноламина.



Медианные летальные дозы ( $LD_{50}$ , мг/кг) для МЭА и МЭА-катионов в нейтральных растворах органических кислот (расчет  $LD_{50}$  по МЭА-катиону)

Это объясняется тем, что введение растворов органических солей МЭА в желудок не сопровождалось поражением слизистой желудочно-ки-

шечного тракта и болевым шоком. Величина медианной летальной дозы вводимого интрагастрального раствора соли МЭА зависела, прежде всего,



от аниона органической кислоты. Таким образом, токсичность исследованных солей МЭА в расчете на МЭА-катион уменьшалась в ряду: МЭА-цитрат ( $LD_{50}$  3220 мг/кг) – МЭА-ацетат ( $LD_{50}$  4030 мг/кг) – МЭА-сукцинат ( $LD_{50}$  4790 мг/кг).

Ацетаты обладают низкой токсичностью: при пероральном введении мышам  $LD_{50}$  для уксусной кислоты составляет 4960 мг/кг [15], для ацетата натрия – 6891 мг/кг [16]. В случае попадания в организм больших доз ацетата возможен обратный путь метаболизма с образованием достаточно токсичного ацетальдегида, вызывающего нарушения структуры белков. При пероральном введении мышам лимонной кислоты  $LD_{50}$  составляет 5040 мг/кг [15], а тризамещенного цитрата натрия – 5400 мг/кг [17]. Янтарная кислота и ее соли обладают незначительной острой токсичностью: при внутривенном введении мышам янтарной кислоты  $LD_{50}$  составляет 1400 мг/кг [18], а двузамещенного сукцината натрия – 4500 мг/кг [19], при пероральном введении соли  $LD_{50}$  – 7998 мг/кг [20]. Вместе с тем большие дозы янтарной кислоты и ее солей могут привести к нарушениям равновесия между свертывающей и антисвертывающей системами крови [21].

Токсичность каждой из изученных солей МЭА была значительно ниже, чем токсичность свободного МЭА, при этом необходимо учитывать, что она складывается из суммарной токсичности моноэтаноламмоний-катиона и кислотного остатка органической кислоты. В эксперименте вводимые дозы анионов органических кислот были достаточно велики и на уровне значений  $LD_{50}$  (с учетом реальной доли кислоты для нейтрализации МЭА) составили для ацетата 3250 мг/кг, для цитрата – 3730 мг/кг и сукцината – 4300 мг/кг (с округлением до единиц соответственно 3064·1,06; 4095·0,91; 4481·0,96). Сопоставление полученных для анионов этих кислот данных с рассчитанными значениями 4958, 5727 и 3956 мг/кг из известных  $LD_{50}$  для ацетата, двузамещенного сукцината и трехзамещенного цитрата натрия (соответственно 6891, 7998 и 5400 мг/кг) показало, что экспериментальные дозы ( $LD_{50}$ ) для анионов составили: для ацетата – 66, сукцината – 75 и цитрата – 94%.

Приведенные факты свидетельствовали о том, что медианная летальная доза для ацетата, сукцината и цитрата моноэтаноламмония формируется в значительной степени под влиянием токсического воздействия на организм животных анионов органических кислот и в меньшей степени за счет моноэтаноламмоний-катиона.

При этом доза МЭА-катиона на уровне  $LD_{50}$ , вводимая перорально в виде соли, кратно превосходила дозу МЭА в виде основания, обладающего выраженной щелочной реакцией. Сопутствующая МЭА-катиону доза анионов органических кислот, переносимая мышами на уровне  $LD_{50}$ , определялась в основном теми биохимическими и физиологическими сдвигами, которые анионы вызывали в организме экспериментального животного. Так, у цитрат-аниона, связывающего ионизированный кальций в крови и внеклеточной жидкости, токсический эффект на уровне  $LD_{50}$  проявлялся раньше, когда МЭА-катиона было введено всего лишь 3220 мг/кг. У менее токсичного ацетат-аниона токсический эффект на уровне  $LD_{50}$  проявлялся позже, когда количество введенного МЭА-катиона достигло 4030 мг/кг. Известный своей низкой токсичностью сукцинат-анион позволил еще более увеличить количество вводимого вместе с ним МЭА-катиона – это на уровне  $LD_{50}$  составило 4790 мг/кг, что превышает аналогичный показатель для перорального введения мышам такого продукта питания, как поваренная соль ( $LD_{50}$  4000 мг/кг) [15]. Приведенное сопоставление демонстрирует низкий уровень острой токсичности моноэтаноламина в катионной форме при его пероральном введении в организм млекопитающих.

Таким образом, в работе показано, что органические соли моноэтаноламина не вызывали гибели лабораторных мышей от поражений желудочно-кишечного тракта и болевого шока; моноэтаноламин в катионной форме обладал низкой острой токсичностью; острая интоксикация после введения больших доз органических солей моноэтаноламина связана преимущественно со свойствами кислотных анионов; наибольшей токсичностью обладал МЭА-цитрат, наименьшей – МЭА-сукцинат.

#### Список литературы

1. Лазарев Н. В., Левина Э. Н. Вредные вещества в промышленности : в 3 т. Л. : Химия, 1976. Т. 2. 223 с.
2. Тимофеевская Л. А. Токсикологические характеристики моноэтаноламина // Токсикология новых промышленных химических веществ. 1962. № 4. С. 81–91.
3. Knaak J. B., Leung H. W., Stott W. T., Busch J., Bilsky J. Toxicology of mono-, di- and triethanolamine // Rev. Environ. Contam. Toxicol. 1997. Vol. 149. P. 1–86.
4. McConnell E., Dixit R., Dorman D., Feuston M., Harke-ma J., Kipen H., Koller L. Emergency and continuous exposure guidance levels for selected submarine con-



- taminants. Washington D.C. : The National Academies Press, 2007. P. 195–208.
5. Weeks M. H., Downing T. O., Musselman N. P., Carson T. R. The effect of continuous exposure of animals to ethanolamine vapour // Amer. Ind. Hyg. Assoc. J. 1960. Vol. 21. P. 374–381.
  6. Азарнова Т. О., Зайцев С. Ю., Найденский М. С., Азарнова Л. Ю. Коламин как фактор антиоксидантной защиты // Ветеринарная медицина. 2011. № 1. С. 23–25.
  7. Сало А. В. Научно-практическое обоснование повышения адапционных способностей и мясной продуктивности бычков за счет генетических и паратипических факторов при промышленном производстве говядины : автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. Волгоград, 2009. 54 с.
  8. Luck J. M., Wilcox A. On determination of ethanolamine in urine and factors affecting its daily output // J. Biol. Chem. 1953. Vol. 205. P. 859–866.
  9. Плотникова О. М., Григорович М. А., Кудрин Б. И., Евдокимов А. Н. К вопросу о токсичности моноэтаноламина // Медико-биологические аспекты обеспечения химической безопасности Российской Федерации / под ред. проф. В. Р. Рембовского. СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2012. С. 142–145.
  10. Плотникова О. М., Григорович М. А., Кудрин Б. И., Евдокимов А. Н., Сосновских Е. Н. Острая токсичность некоторых неорганических солей моноэтаноламина // Вестн. Челяб. гос. пед. ун-та. 2012. № 8. С. 332–341.
  11. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных // Ланималогия. 1993. № 1. С. 29.
  12. Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных. Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР № 755 от 12.03.1977 г. и Минобразования №742 от 13.11.1984 г. URL: <http://www.consultant.ru> (дата обращения: 23.04.13).
  13. Research clinic and diagnostic laboratory Institute of Surface Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine. URL: <http://ilch.vsmu.edu.ua/soft/ld50/ld50.htm> (дата обращения: 27.11.2012).
  14. Кориунов Д. А. Влияние эссенциале и янтарной кислоты на биоэнергетику печени при интоксикации парацетамолом в эксперименте // Бюл. сибир. медицины. 2009. № 4. С. 70–75.
  15. Materials Safety Data Sheet Listing. (Acetic Acid. Citric Acid. Sodium Chloride). URL: <http://www.sciencelab.com/msdsList.php> (дата обращения: 20.02.2013).
  16. Materials Safety Data Sheet. Sodium Acetate. URL: <http://avogadro.chem.iastate.edu/MSDS/NaOAc-3H2O.htm> (дата обращения: 20.02.2013).
  17. Materials Safety Data Sheet. Trisodium Citrate. URL: <http://www.setonresourcecenter.com/msdshazcom/htdocs/MSDS/A/ARCHIVE/WCD00007/WCD00797.HTM> (дата обращения: 20.02.2013).
  18. Materials Safety Data Sheet. Succinic Acid. URL: <https://www.spectrumchemical.com/MSDS/TCI-S0100.pdf> (дата обращения: 20.02.2013).
  19. Materials Safety Data Sheet. Disodium Succinate. URL: <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/150903.pdf> (дата обращения: 20.02.2013).
  20. Шалимов С. А., Борщевская М. И., Волченкова И. И., Корчевая Л. М., Майданевич Н. Н. Изучение острой и хронической токсичности натрия сукцината // Совр. пробл. токсикологии. 2001. № 3. С. 72–76.
  21. Шалимов С. А., Галахин К. А., Борщевская М. И., Волченкова И. И., Корчевая Л. М., Майданевич Н. Н. Особенности, характер и выраженность токсического действия высоких доз натрия сукцината на организм экспериментальных животных // Совр. пробл. токсикологии. 2001. № 4. С. 11–16.

УДК 582.738 (581.92+581.95)

## РОД *HEDYSARUM* L. В ГЕРБАРИИ САРАТОВСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА (SARAT, SARP)

М. В. Лаврентьев, Е. А. Архипова, В. А. Болдырев

Саратовский государственный университет  
E-mail: MihailLavrentev@yandex.ru

В статье приводятся результаты инвентаризации, изучения и определения авторами сборов рода *Hedysarum* в Гербарии Саратовского государственного университета (SARAT, SARP).

**Ключевые слова:** Гербарий СГУ (SARAT, SARP), *Hedysarum alpinum*, *H. biebersteinii*, *H. cretaceum*, *H. gmelinii*, *H. grandiflorum*, *H. razoumovianum*.



### Genus *Hedysarum* L. in Herbarium of Saratov State University (SARAT, SARP)

М. V. Lavrentyev, E. A. Arkhipova, V. A. Boldyrev

Results of inventory, investigation and determination by authors of specimens of genus *Hedysarum* in Herbarium of Saratov State University (SARAT, SARP) are given.



**Key words:** Herbarium of Saratov State University (SARAT, SARP), *Hedysarum alpinum*, *H. biebersteinii*, *H. cretaceum*, *H. gmelinii*, *H. grandiflorum*, *H. razoumovianum*.

Род *Hedysarum* L. насчитывает около 200 видов. Копеечники – многолетние травы, реже невысокие кустарники или полукустарники. Среди представителей рода имеется значительное количество кормовых, декоративных и лекарственных видов [1]. Многие копеечники являются не достаточно изученными, даже в наше время находят новые виды этого рода. В связи с этим для уточнения систематического положения и распространения таксонов важна информация о них, хранящаяся в виде гербарных материалов.

В результате проведения инвентаризации рода *Hedysarum* во всех отделах Гербария СГУ получен полный на сегодняшний день перечень этикеток этого рода. Каждый гербарный образец был тщательно изучен авторами и переопределён в соответствии с принимаемыми нами современными представлениями о систематике таксона (номенклатура видов дана по сводке С. К. Черепанова [2]), этикетки занесены в электронную базу данных Гербария СГУ.

В связи с тем что материалы Гербария СГУ собирались в течение последних 114 лет, для которых характерны неоднократные изменения названий и границ регионов, авторы, сохранив названия населенных пунктов, упоминаемые в этикетках, постарались определить, на территории какого региона этот населенный пункт находится сейчас. Местонахождения видов структурированы в соответствии с современным административно-территориальным делением регионов. Те этикетки, для которых принадлежность к административному району не установлена, цитируются точно и обозначаются звездочкой.

В Гербарии Саратовского государственного университета (SARAT, SARP) имеются образцы 6 видов копеечников.

**Копеечник альпийский** (*H. alpinum* L. subsp. *boreo-euroaeum* Jurtz.) – корневищный травянистый многолетник с прямостоячими стеблями, высотой до 140 см.

#### **Республика Башкортостан**

##### Чишмирский район

д. Чишмы, сыроватые луга, 27.6.1917, Legit Фофанов В. В., Determ Лаврентьев М. В.

**Копеечник Биберштейна** (*H. biebersteinii* Zertova) – стержнекорневой травянистый многолетник с неразвитыми стеблями, высотой до 40 см.

\*Терская область, Машука (предположительно Ставропольский край, г. Пятигорск), 20.6.1910, Legit Гордягин А., Determ Лаврентьев М. В.

**Копеечник меловой** (*H. cretaceum* Fisch.) – корневищный травянистый многолетник с восходящими или несколько прямостоячими стеблями, высотой до 45 см. Вид занесён в «Красную книгу Российской Федерации» [3] с категорией и статусом 3д – редкий вид.

#### **Волгоградская область**

##### Камышинский район

известковый склон «Белых гор» в версте от хут. Белогорки (предположительно, ныне с. Белогорки), 2.8.1924, Кадыкова А.;

меловые горы близ хут. Белые Горки (предположительно, ныне с. Белогорки), 14.5.1925, Determ Лаврентьев М. В.;

меловые горы бл. с. Белые Горки (предположительно, ныне с. Белогорки), 14.6.1925, Кадыкова А.

**Копеечник Гмелина** (*H. gmelinii* Ledeb.) – травянистый многолетник с восходящими или прямостоячими стеблями, высотой до 60 см. Изученные гербарные образцы имеют высокую степень изменчивости морфологических признаков, особенно степени выраженности стеблей, характера опушения стеблей, листочков и плодов, числа пар листочков. Есть основания разделить данный вид на подвиды и разновидности (как это сделано, например, во «Флоре СССР» [1] или у описавшего этот таксон Карла Ледебура [4]), но в процессе изучения и определения хранящихся в Гербарии СГУ экземпляров чётких морфологических закономерностей выявлено не было.

#### **Оренбургская область**

##### Алексеевский район

1 км на с-в от с. Тарханы, степные склоны холма, 28.7.2006, Legit Рыжкова О. В., Determ Плаксина Т. И.;

#### **Республика Башкортостан**

##### Чишмирский район

д. Чишмы, мергелистый склон, 1.6.1917, Legit Фофанов В. В., Determ Лаврентьев М. В.;

#### **Республика Татарстан**

##### Новошешминский район

на южных склонах Коржинского при входе р. Волчьей в р. Секинесь (предположительно, ныне окр. пос. Красный Октябрь, заказник «Склоны Коржинского»), 28.6.1899, Determ Лаврентьев М. В.;

#### **Ульяновская область**

##### Тереньгульский район

к северу от с. Суровка, обнаж. меловые породы на склоне водораздела, 25.7.1950, Благовещенский В. В.;



Сенгилеевский район

окр. м. Смысловки (Рустовские ключи), меловые обнажения, Determ Лаврентьев М.В.;

на обнажениях мела и в сосняке на мелу у местечка «Рустовские ключи», 6.1906, Legit Янишевский Д. Е., Determ Лаврентьев М. В.;

сосняк на мелу, Рустовские ключи, 4.6.1906, Determ Лаврентьев М. В.;

окр. м. Смысловка (Рустовские ключи), 17.6.1908, Legit Янишевский Д.Е., Determ Лаврентьев М. В.;

**Республика Казахстан**

**Актюбинская область**

Мугалжарский район

склоны известковые в западной части Мугалжарских гор, северные районы Кундузду, 22.6.1904, Legit Янишевский Д., Determ Лаврентьев М. В.;

\*Тургайская область, Актюбинский уезд, холмы меловые у Акая, с севера от Сарыхозды, 7.1904, Legit Янишевский Д., Determ Лаврентьев М. В.;

\*Уфимская губерния, Белебеевский уезд, Нагибинское кумысное зав., восточные склоны в долину Курсака, 7.6.1903, Legit Гордягин А., Determ Лаврентьев М. В.;

\*Уфимская губерния, Белебеевский уезд, д. Алибеево, 1914, Legit Фофанов В. В., Determ Лаврентьев М. В.;

\*Уфимская губерния, Белебеевский уезд, д. Алибеево, склоны холмов, 5.5.1914, Legit Фофанов В. В., Determ Лаврентьев М. В.;

\*Уфимская губерния, Белебеевский уезд, склоны холмов у д. Алибеево, 5.6.1914, Legit Фофанов В., Determ Лаврентьев М. В.;

**Копеечник крупноцветковый** (*H. grandiflorum* Pall.) – стержнекорневой травянистый многолетник или полукустарничек с неразвитыми или сильно укороченными стеблями, высотой до 40 см. Занесён в «Красную книгу Российской Федерации» [3] с категорией и статусом Зв – редкий вид. Частично эти материалы можно найти в статье о распространении к. крупноцветкового на территории Саратовской области (по данным Гербария СГУ (SARAT, SARP)) [5], но полностью данные о сборах приводятся здесь.

**Волгоградская область**

Камышинский район

близ Камышина, 8.1928;

**Оренбургская область**

водораздел рек Кургами и Джангыз-Агаг-Сая, тырсово-ковылково-грудницева ассоциация, 17.7.1962, Воробьева С. С.;

Адамовский район

совхоз «Тобольский» (предположительно, ныне пос. Тобольский), 1954, Determ Лаврентьев М. В.;

Бузулукский район

гора близ г. Бузулук, 19.5.1915, Legit Фофанов ?, Determ Лаврентьев М. В.;

**Саратовская область**

г. Саратов и его окрестности

Лысая гора, 4.1911, Determ Архипова Е. А.; Смирновские дачи, 10.6.1936, фамилия написана неразборчиво;

Смирновское ущелье, 11.6.1936, Determ Терешко;

Лысая гора, 30.6.1953, Устинова;

Лысая гора, 13.5.1964, Маевский;

Лысая гора, 20.7.1976, Legit Неменкова З.;

Октябрьское ущелье, 6.6.1985, Legit Чигуряева А. А.;

Октябрьское ущелье, 15.7.1985, Чигуряева А.А.;

Октябрьское ущелье, склон микрокомплекса детск. спор. площад., 10.6.1986;

Октябрьское ущелье, юго-восточный склон, 15.7.1989, Жидяева М. В., Соколова С. П., фамилия написана неразборчиво;

Базарно-Карабулакский район

Хватовка-Казанла, вершина мелового склона, 28.6.1993, Мичурин В. Г., Шейпак О. А., Решетникова Т. Б., Еленевский А. Г.;

Вольский район

окр. г. Вольска, меловые обнажения за заводом Ассерина, 5.5.1917, Legit Попов М. Г.;

окр. г. Вольска, меловой склон у садов, на мелу, 9.6.1936, Шарова В.;

окр. г. Вольска, по склону мелового холма, к с.-вост. от города, 9.6.1936, Шарова В.;

меловые склоны близ с. Н. Чернавка, 27.5.1950, Протоклитова Т.;

с. Тепловка, меловые гребни, меловой склон с соснами, 26.6.1992, Решетникова Т. Б., Еленевский А. Г.;

Ивантеевский район

ов. Змейка на южном склоне (3 градуса), 28.5.1960, Крашенинникова Л. С., Тарасов А.О.;

ов. Змейка, 28.5.1960, Legit Крашенинникова Л. С.;

Красноармейский район

с. Норка, меловые обнажения, 5.7.1939, Любич Ф.;

склон южнее с. Мелового, выходы мела, 23.7.1949, Legit Иванова Р. Д.;

на сев.-вост. склоне у с. Садовое, 4.6.1950;





север. с. Садовое, степной склон, 4.6.1950, Медведева И.;

степн. склон север. с. Садовое, 4.6.1956, Медведева И.;

с. Ахмат, меловой склон, высокий берег Волги, 22.6.1989, Решетникова;

Марковский район

г. Маркс, степь ковыльно-злаково-пырейная, Determ Архипова Е. А.;

Новобурасский район

с. Тепловка, гора Шихан, южный степной склон на меловых склонах, 9.6.1990, Буланый Ю. И., Сафронова Н., Шарких И.;

Озинский район

10 км восточнее ст. Озинок, степь, 16.6.1961, Legit Тарасов А. О.;

4 км ю-в совхоза Чалыклинского, с-з склон Чалыклинских гор, 20.5.1961, Legit Федорова Л. В., Determ Лаврентьев М. В. (большая часть образца утеряна);

граница с Казахстаном, степной склон, 30.6.2004, Радыгина В., Буланый Ю.;

Саратовский район

с. Кологов Буерак, южный склон Мертвой горы, 25.6.1964, Жидяева М. В., Кох Е.К.;

окр. с. Синенькие, меловой склон, 22.6.2001, Legit Ежов А., Determ Решетникова Т. Б.;

Татищевский район

окр. с. Мизино-Лапшиновка, известковые обнажения, 10.5.1985, Березуцкий М. А.;

Хвалынский район

окр. г. Хвалынка, гора Богданиха, меловой склон юго-вост. экспозиции;

г. Хвалынка, гора Каланча, склон южной экспозиции, Legit Гагаева, Determ Воронина К. В.;

С. Маза, на меловом склоне, 23.7.1938, Кениг Г.;

С. Маза, меловые склоны, 24.7.1938, Кениг Г.;

г. Хвалынка, меловые склоны, 5.1948, Комирная О. Н.;

г. Хвалынка, меловые обнажения близ 2 Черемшанского д/о, 7.6.1954, Legit Воронина К.;

окр. г. Хвалынка, сосновый лес на мелах, 1.5.1962, Determ Архипова Е. А.;

окр. г. Хвалынка, по меловым горам и склонам, 30.6.1962;

г. Хвалынка, меловые отложения, 1.7.1962, Legit Барменков, Determ Архипова Е. А.;

г. Хвалынка, южн. склоны, поросшие сосной, 2.7.1962, Маевский;

окр. г. Хвалынка, опушка соснового леса, гора Богданиха, 29.5.1963, Legit 2 курс стационар, Determ Кузьмина;

г. Хвалынка, гора Богданиха, юго-восточный склон, 29.5.1963;

окр. г. Хвалынка, степной склон южной экспозиции, гора Богданиха, 29.5.1963, Legit Петрошенко Г.;

окр. Хвалынка, восточный склон горы Каланча, 9.6.1965, Кузьмина Н. Г.;

окр. г. Хвалынка, восточнее подножье горы Каланча, 9.6.1965, Карякина Л.;

окр. г. Хвалынка, восточный склон горы Каланча, степь, 18.6.1965, Legit Бригада № 6;

северный склон горы Каланча в окр. г. Хвалынка, 18.6.1965, Бреднева О.;

окр. г. Хвалынка на горе Каланча, степь на мелу, 18.6.1965, Долинина Г. К.;

северный склон горы Каланча в окр. г. Хвалынка, 18.6.1965, Корулина Ф. Н.;

в 1 км от с. Сосновая Маза, крутой склон ю-в экспозиции, выходы мела, 7.7.1978, Колеснева Е.;

Хвалынка, меловой склон горы Богданиха, 5.7.1979, Добротина;

окр. Черемшан, 3.7.1982, Legit Борисовская, Determ Архипова Е. А.;

с. Старая Яблонка, меловой склон, 12.6.1988, Legit Купатадзе Г., Determ Еленевский А.;

Арменские горы, травяной известковый склон, 1.6.1990, Фатин С., Купатадзе Г. А., Соколова Т. Г.;

склон холма (сев.), к с.-в. от г. Бельенькой, 4.6.1999, Серова Л. А.;

**Республика Татарстан**

Новошешминский район

южн. изв. скл. Коржинского, пр. вход Волчьих в р. Секинь сплошными зарослями (предположительно, ныне окр. пос. Красный Октябрь, заказник «Склоны Коржинского»), 28.6.1899, Determ Архипова Е. А.;

\*Уфимская губерния, Белебеевский уезд, д. Алибеево, склоны холмов, 29.5.1914, Legit Фофанов В. В.

**Копеечник Разумовского** (*H. razoumovianum* Fisch. et Helm) – травянистый многолетник с прямостоячими стеблями, высотой до 40 см. Занесён в «Красную книгу Российской Федерации» [3] с категорией и статусом 3д – редкий вид.

**Волгоградская область**

Калачевский район

окр. хут. Лучинского (предположительно, ныне хутор Пятиизбянский), вост. склон, 4.9.1926, Legit Фурсаев А.Д., Determ Лаврентьев М. В.;

**Оренбургская область**

Акбулакский район

меловые холмы в 14 верстах от Ак-булай у



зимовки? (предположительно, ныне п. Акбулак), 30.5.1904, Янишевский Д. Е.;

Пономаревский район

1 км к с-в от с. Алябьево, каменная степь по склону, 26.7.2006, Legit Рыжкова О. В., Determ Плаксина Т. И.;

**Саратовская область**

Вольский район

окр. г. Вольска, меловые холмы против завода «Дубитель», 6.7.1928, Сониная Г., Чигуряева А.; меловые обнажения выше Вольска у зав. «Дубитель», 5.6.1929, Чигуряева А. А.;

г. Вольск, меловой холм, 27.6.1992, Legit Решетникова Т., Determ Еленевский А.;

Озинский район

окр. ст. Чалыкла, залежь на камен. участке с мел. камн., Янишевский Д. Е.;

окр. ст. Чалыкла, залежь на каменных участках, ? камнях, Янишевский Д.;

на выходах мела по выемкам близ полотна ж.д. между ст. Чалыкла и Озинки, 23.6.1911, Янишевский Д.;

граница с Казахстаном, меловой степной склон, 30.6.2004, Родионова Ю., Буланый Ю. И.;

окр. с. Меловое, гора Меловая, 18.7.2012, Legit Буланый Ю. И., Архипова Е. А., Чеботарёва О. В., Determ Лаврентьев М. В.;

Хвалынский район

окр. с. Ст. Лебейка, гора Пиче-Пандра, вершина, литосоль карбонатная с выходами мела, доминанты *Festuca valesiaca*, *Stipa capillata*, *Thymus cimicinus*, *Potentilla vulgarica*, 14.5.2010, Лаврентьев М. В.;

**Ульяновская область**

Радищевский район

к сев. от с. Адоевщина, ковыльная степь на склоне р. Терешка, 8.8.1942, Благовещенский В.В.;

**Республика Казахстан**

\*Уральская область, Темирский уезд, Акчатау, меловые холмы, 24.7.1904, Янишевский Д.;

\*Уральская область, Уральский уезд, холмы к северу от п. Токарева (в 5 в.), меловые обнажения, 9.7.1903, Янишевский Д.;

\*Уфимская губерния, Белебеевский уезд, Нагибинское кумысное зав., восточные склоны в долину Курсака, 7.6.1903, Гордягин А.

**Список литературы**

1. Флора СССР / гл. ред. акад. В. Л. Комаров. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1948. Т. 13. 589 с.
2. Черепанов С. К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб. : Мир и семья, 1995. 990 с.
3. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / гл. редкол.: Ю. П. Трутнев и др.; сост. Р. В. Камелин и др. М. : Тов. науч. изд. КМК, 2008. 855 с.
4. Ledebour C. F. Flora Rossica sive Enumeratio plantarum in totius Imperii Rossici provinciis europaeis, asiaticis et americanis hucusque observatarum. Stuttgartiae : sumtibus librariae E. Schweizerbart, 1842. Vol. I. P. 698–708.
5. Архипова Е. А., Лаврентьев М. В., Болдырев В. А., Степанов М. В. Распространение *Hedysarum grandiflorum* Pall. на территории Саратовской области (по данным гербария СГУ (SARAT, SARP)) // Раритеты флоры Волжского бассейна : докл. участников II Рос. науч. конф. (г. Тольятти, 11–13 сентября 2012 г.) / под ред. В. С. Саксонова и С. А. Сенатора. Тольятти : Кассандра, 2012. С. 15–18.

УДК 582 (470. 45)

**КОНСОРТИВНЫЕ СВЯЗИ ВОДЯНОГО ОРЕХА (TRAPA NATANS L. s. L., TRAPACEAE) В ВОЛЖСКОМ БАССЕЙНЕ**

**О. И. Жигачева**

Волгоградский государственный университет  
E-mail: zhigacheva88@mail.ru



Приведены данные биоэкологического исследования водяного ореха (*Trapa natans* L. s. l.) в Волжском бассейне. Открыты новые консорты первого и второго концентра водяного ореха. Приведены данные об его известных консортивных связях.

**Ключевые слова:** водяной орех, консортивные связи, экология, биология, концентр, беспозвоночные животные.

**In Total about Konsortivny Communications of a Water Nut (*Trapa Natans* L. s. l. Trapaceae) in Inundated Reservoirs of the Volzhsk Pool**

**O. I. Zhigacheva**

Data of bioekologicheskoy research of a water nut (*Trapa natans* L. s. l.) in Volzhsk pool. Are open new консорты the first



концентра a water nut. Data on its known konsortivny communications are provided.

**Key words:** water nut, konsortivny communications, ecology, biology, концентр, invertebrate animals.

Водяной орех издревле известен людям своими уникальными особенностями: его плоды очень питательны и вкусны, его вегетативные органы применялись в народной медицине Китая и Индии. В семенах ореха содержатся крахмал, жиры, белки, сахара, их зола богата калием, фосфором, в листьях обнаружены гликозиды [1].

Поскольку водяной орех обладает ценными пищевыми и лекарственными свойствами, его практическое значение в фармацевтике и пищевой промышленности трудно переоценить. В то же время водяной орех – исчезающий реликтовый вид, занесенный в «Красную книгу» России, СССР, Волгоградской области и нуждающийся в охране и восстановлении своей численности.

Вопросом интродукции и разведения водяного ореха на территории Волгоградской области до сих пор никто не занимался. Для разведения водяного ореха необходима разработка методик его интродукции, подход к которым невозможен без знания эколого-биологических свойств этого растения, в особенности без информации о его консортных взаимосвязях. По нашим наблюдениям в природе, водяной орех – клональный однолетник, аэрогидатофит – на протяжении всего своего жизненного цикла тесно связан с целым рядом насекомых и других животных, которые, несомненно, влияют на него тем или иным образом. Вопрос о консорциях водяного ореха изучен крайне слабо.

По данным исследований в Самарской области, на нём были обнаружены жук-листоед *Calerucella nymphaea*, а также тля *Rhopalosiphum nymphaeae*, моллюски *Amphipeplea glutinosa*, *Radix auricularia*, *Limnaea stagnalis*, *Radix ovata*, *Donacia fennica* [2]. Результаты исследований сотрудников отдела энтомологии университета Мэриленда (США) Дж. Дэвидсона и Л. Фокс свидетельствуют о том, что важнейшими консортами водяного ореха в условиях Северной Америки являются следующие беспозвоночные: *Aphididae*, *Otiiorhynchus sulcatus*, *Trichoptera*, *Nymphula* spp., *Noctuidae*, *Pyralidae*, *Sciaridae*, *Popillia japonica*, *Donacia* spp., *Cicadellidae*, *Chironomus* spp., *Cricotopus* spp., *Oligonychus* spp., *Tetranychus* spp., *Galerucella nymphaeae*, *Aleyrodidae* [3].

Консортные связи водяного ореха в условиях Волгоградской области изучались в июле-

августе 2010 г. на трёх его местонахождениях: в старицах р. Хопра у ст. Букановской, на р. Медведице у г. Жирновска и на р. Терсе близ р.п. Рудни.

В 2011 г., в аналогичный промежуток времени, были исследованы те же местообитания водяного ореха и два новых: на р. Дон в х. Рыбный и на р. Кегач в г. Астрахани.

В июле-августе 2012 г. исследовалась популяция *Trapa* в старицах р. Хопра у ст. Букановской, на р. Медведице у г. Жирновска и на р. Дон в х. Рыбный. В выявленных популяциях произведён учет и измерение розеток растений. В ходе наблюдений был осуществлён сбор беспозвоночных животных, обнаруженных на надводных и подводных частях особой водяного ореха по методике В. В. Негрובהа и К. Ф. Хмелёва (1999) [4]. Собранные материалы фиксировались в смеси спирта и формалина, подвергались камеральной обработке, определению по стандартным определителям пресноводной фауны (1962, 1977), выделению элементов консорции и изучению их взаимного расположения и взаимосвязи [5, 6].

Популяционно-консортивный анализ осуществлялся в рамках выявления сущности взаимоотношений консортов на основе установления положительной или отрицательной коррелятивной зависимости организмов, составляющих консорцию [7]. Методом прямого наблюдения выявлялись позвоночные животные, влияющие на рост и размножение *Trapa natans* в указанных местонахождениях. В ходе изучения собранных нами материалов было обнаружено 19 видов беспозвоночных животных, связанных с *Trapa natans* посредством трофических и фабрических связей (табл. 1), а также 4 вида позвоночных животных, охотно употребляющих водяной орех в пищу (табл. 2). Тип связи с видом – эдификатором определялся по В. Н. Беклемешеву. Он выделял такие симфизиологические связи, как: топические – воздействующие на условия обитания популяции; трофические – связанные с питанием организма; фабрические – возникающие при сооружении организмами своих жилищ; форические – возникающие при переносе одними организмами особой диаспор популяций другого вида. Ключевым типом связи Беклемешев обозначил топический критерий [8].

Анализ данных табл. 1 и табл. 2 свидетельствует, что подавляющее большинство обнаруженных консортов первого и второго концентров (4 вида позвоночных и 5 вида беспозвоночных животных) связаны с водяным орехом трофически, поедая различные части растения и влияя на его рост и размножение.



Таблица 1

Состав консортов первого концентрата и их связи с *Trapa natans* L. в Волжском бассейне

Консорт	Связь с детерминантом	р. Хопер	р. Дон	р. Медведица	р. Кегач
1	2	3	4	5	6
<i>Lymnaea ovata</i> , Draparnaud 1805 – <b>Прудовик яйцевидный</b>	Связан с растением трофическими связями	4	Кладки	6	2
<i>Bithynia tentaculata</i> L., 1758 – <b>Битиния щупальцевая</b>	Связан с растением фабрической, топической связью. Также имеет место быть трофическая связь, так как питаются улитки различными растительными остатками	1		1	2
<i>Glossiphonia complata</i> L., 1758 – <b>Улитковая пиявка</b> <i>Herpobdella octoculata</i> L., 1758 – <b>Малая ложноконская пиявка</b>	Связан с водяным орехом фабрической и топической связью		1 5		
Acariformes <i>n.d</i> – <b>Акариформные клещи</b>	По всей видимости, с водяным орехом связаны топической и фабрической связью	Кладки		Кладки	
<i>Dicrotendipes tritonus</i> Kieffer, 1916 – <b>Комар-звонец</b>	Личинки хирономид <i>Dicrotendipes tritonus</i> являются случайно занесенными животными. Связаны с растением фабрической связью			5	5
<i>Cordulia aenea</i> Linnaeus, 1758 – <b>Бабка блестящая</b> <i>Erythromma viridulum</i> Charpentier, 1840 – <b>Стрелка зеленушка</b> <i>Ischnura elegans</i> Vanderlinden, 1823 – <b>Стрелка изящная</b>	На водяном орехе были найдены личинки стрекоз. Консортные отношения – топические	4	1	4 5 1	1
<i>Donacia crassipes</i> F. – <b>Радужница толстоногая</b>	Радужница связана с водяным орехом трофической связью			3	5
<i>Endodnironomus impar</i> Walker, 1856	Личинки <i>Endodnironomus impar</i> связаны трофически, причем являются минирующей формой			1 (в срезе черешка листа)	
<i>Ablabesmyia monilis</i> L., 1758 – <b>Ущельница</b> <i>Cricotopus silvestris</i> Fabricius, 1794 – <b>Крикотопус</b> <i>Tanytarsus gregarius</i> Kieffer, 1909 – <b>Звонец лапчатый</b> <i>Dicrotendipes tritonus</i> Kieffer, 1916; <i>Polypedilum nubeculosum</i> Meigen, 1818 – <b>Звонец подвижный</b>	Личинки звонцов связаны фабрической и топической связью с водяным орехом	2 1 6 2 1		4	4 6 3
<i>Ecnomus tenellus</i> Rambur, 1842 – <b>Экномус нежный</b> <i>Leptocerus tineiformis</i> , Curtis 1834 – <b>Ручейник</b>	Связан фабрической и трофической связью	3		6	8
<i>Palpromyia lineata</i> Meigen, 1804	Связан с растением фабрической связью	1			4



Таблица 2

**Состав консортов второго концентра и их связи с *Trapa natans* L. в Волжском бассейне**

Консорт	Связь с детерминантом	р. Хопер	р. Дон	р. Медведица	р. Кегач
1	2	3	4	5	6
<i>Anser</i> Brisson, 1760 – <b>Гуси</b>	Гуси охотно поедают вегетативные органы, цветки и плоды водяного ореха. Связаны трофической связью		8		10
<i>Sus scrofa</i> L., 1758 – <b>Кабан дикий</b>	Поедают плоды водяного ореха, выкапывая его из ила осенью, когда в реке падает уровень воды. Связан с водяным орехом трофической связью	Следы		Следы	
<i>Cator fiber</i> , L., 1758 – <b>Бобер обыкновенный</b>	Замечено, что бобры строят хатки близ плантаций водяного ореха. Вполне вероятно, что они питаются водяным орехом. Возможные консортивные связи – трофические			Следы	
<i>Emys orbicularis</i> L. 1758 – <b>Европейская болотная черепаха</b>	Связана с водяным орехом топической связью. Использует розетки листьев как субстрат, когда греется на солнце. Болотная черепаха иногда связана с водяным орехом трофической связью. Поедает мягкие и сочные части растения, оставляя следы укусов на листьях, тем самым нанося ущерб растению				8

Имеющиеся в настоящее время данные не позволяют выделить виды, вероятно ответственные за опыление цветков *Trapa*, и потому особенности его антропоэкологии остаются загадкой. Результаты визуальных наблюдений однозначно свидетельствуют, что такие животные, как бобер и кабан могут распространять плоды водяного ореха, который прикрепляется к копытам и шерсти животных. Однако остаётся неясным, насколько эффективен такой способ расселения *Trapa natans* и как далеко могут разноситься его диаспоры в соседние водоёмы.

Таким образом, нами были выявлены некоторые новые консорты, которые оказывают заметное влияние на водяной орех как вид-эпифит в его сообществах на территории Волжского бассейна. Более детальное изучение эколого-биологических особенностей водяного ореха поможет обнаружить потенциальных опылителей и вредителей водяного ореха. Это, в свою очередь, будет способствовать успешной интродукции водяного ореха и восстановлению его популяций в природных водоёмах Волгоградской области.

**Список литературы**

1. Тюли С. Я., Фурса Н. С. Род *Trapa* L. – Водяной орех // Растительные ресурсы. Цветковые растения, их химический состав и использование. Семейства *Hydrangaceae* – *Haloragaceae*. Л.: Наука, 1987. С. 206–207.
2. Матвеев В. И., Шилов М. П. Водяной орех: Проблема восстановления ареала вида. Самара: Изд-во СамГПУ, 1996. 57 с.
3. Nash H., Stroupe S. Plants for Water Gardens. The Complete Guide to Aquatic Plants. Sterling Publishing Company, Inc., N.Y., 1998. 12 p.
4. Негрбов В. В., Хмельёв К. Ф. Консорционный анализ семейства кувшинковых *Nymphaeaceae* Salisb. бассейна Среднего Дона. Воронеж: Наука, 1999. 184 с.
5. Краткий определитель пресноводной фауны / под ред. Е. М. Хейсина. М.: Учеб.-пед. изд-во Мин. просвещения РСФСР, 1962.
6. Определитель пресноводной фауны Европейской части СССР / под ред. Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатова. М.: Гидрометеиздат, 1977.
7. Беклемишев В. Н. О классификации биоценологических (симфизиологических) связей // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1951. Т. 61, вып. 5. С. 3–30.
8. Веселова Е. М. Фитофаги в консорциях травянистых растений // Структура и динамика экосистем южно-таежного Заволжья. М.: Наука, 1989. С. 87–111.



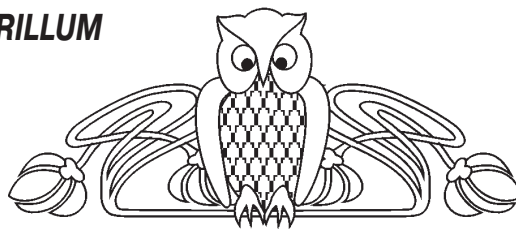
УДК 579.835: 577.114: 612

## ГЛИКОПОЛИМЕРЫ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM* КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АНТАГОНИСТЫ КЛАССИЧЕСКИХ ЭНДОДОКСИНОВ

А. К. Суркина<sup>1</sup>, С. А. Коннова<sup>1,2</sup>,  
Ю. П. Федоненко<sup>1</sup>, В. В. Игнатов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН  
E-mail: surkina-ak@mail.ru

<sup>2</sup>Саратовский государственный университет  
E-mail: konnova@ibppm.sgu.ru



Проведено сравнительное исследование агонистических и антагонистических свойств, а также токсичности гликополимеров бактерий рода *Azospirillum*. Впервые для азоспирилл показано, что их гликаны обладают антагонистическими свойствами в отношении классических эндотоксинов. Установлено, что существенный вклад в реализацию этой активности вносят отдельные жирные кислоты в составе липидов А. Показано влияние конформации исследованных гликанов на их летальную токсичность и ингибирующее действие в отношении эндотоксина *Escherichia coli* O55:B5. Среди изученных препаратов наивысшую антагонистическую активность проявлял липополисахарид бактерий *A. lipoferum* Sp59b.

**Ключевые слова:** *Azospirillum*, гликополимер, фактор некроза опухоли альфа, летальная токсичность, антагонизм.

### Glycopolymers from Bacteria of the Genus *Azospirillum* as Promising Antagonists of Classic Endotoxins

A. K. Surkina, S. A. Konnova,  
Y. P. Fedonenko, V. V. Ignatov

Comparison studies were made on the agonistic and antagonistic properties and on the toxicity of glycopolymers from bacteria of the genus *Azospirillum*. For the first time, it was shown that *Azospirillum* glycans act as antagonists of classic endotoxins. It was observed that certain fatty acids in the lipid A portions of these molecules contributed to the realization of their biological activity. The role of the conformation of the investigated glycans in their lethal toxicity and inhibitory effect on *Escherichia coli* O55:B5 endotoxin was shown. The lipopolysaccharide of *A. lipoferum* Sp59b had the highest antagonistic activity among the investigated polymers.

**Key words:** *Azospirillum*, glycopolymers, tumor necrosis factor alpha, lethal toxicity, antagonism.

### Введение

В настоящее время система врожденного иммунитета рассматривается как первая линия защиты от микробных инфекций, которая быстро реагирует на характерные для патогенов высококонсервативные структуры, патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (pathogen-associated molecular patterns – PAMP) [1]. К PAMP относятся липополисахариды (ЛПС) и капсуль-

ные полисахариды (КПС) грамотрицательных бактерий. Данные биополимеры способны запускать механизмы неспецифической защиты макроорганизма, связываясь с толл-подобным рецептором 4 (TLR4), который относится к семейству толл-подобных рецепторов (Toll-like receptors – TLRs) и экспрессируется на клеточной поверхности лейкоцитов [1, 2]. Однако TLR4 не способен вступать в непосредственное взаимодействие с эндотоксином, являясь молекулярной структурой, которая только передает сигнал возбуждения компонентам внутриклеточных сигнальных путей. Взаимодействие бактериальных гликополимеров с мембранными рецепторами моноцитов, макрофагов и нейтрофилов представляет собой сложный многоступенчатый процесс с вовлечением белков-посредников и образованием промежуточных молекулярных комплексов.

ЛПС являются амфипатическими молекулами, которые легко образуют мицеллярные агрегаты. Эти агрегаты очень слабо взаимодействуют с лейкоцитами и поэтому не способны вызвать выраженный клеточный ответ. Транспорт бактериальных гликополимеров от мицеллярных агрегатов к мембранам осуществляется с помощью вырабатываемого в печени белка острой фазы, связывающего ЛПС (LBP – LPS-binding protein). LBP транспортирует ЛПС к секреторному или мембраносвязанному CD14, образуя комплекс ЛПС/CD14, который, в свою очередь, взаимодействует с белком MD-2. Взаимодействие комплекса ЛПС/CD14/MD-2 с эктодоменом TLR4 сопровождается его конформационными изменениями и запускает сигнальный каскад возбуждения. Эта активация приводит к экспрессии сотен генов, в результате чего синтезируется множество цитокинов и хемокинов, включая фактор некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ), ответственный за развитие острой воспалительной реакции [3, 4].



Развитие острого воспалительного ответа необходимо для локализации и уничтожения проникших патогенов и запуска механизмов, обеспечивающих активацию и регуляцию факторов специфической защиты макроорганизма. Однако избыточная активация данной реакции может привести к клиническим симптомам септического шока – одной из самых сложных проблем теоретической и практической медицины. Согласно данным мировой статистики, это осложнение по-прежнему является одной из ведущих причин летальности при острой хирургической патологии и гнойно-воспалительных инфекциях человека. Частота встречаемости сепсиса среди стационарных больных составляет 1%, а среди пациентов в различных отделениях реанимации и интенсивной терапии – 20–30%. Число заболеваний, осложненных сепсисом, возросло, а уровень смертности в течение последних 40 лет остался очень высоким: 25–35% для пациентов с сепсисом и 60–80% для пациентов с септическим шоком [5].

Одной из стратегий предотвращения подобных состояний является использование антагонистов эндотоксинов, ограничивающих токсичность или цитокинстимулирующую активность последних. Потенциальными кандидатами на роль антагонистов являются сами ЛПС, которые, прежде всего, нетоксичны или слаботоксичны в отношении макроорганизма, а также не вызывают неконтролируемый синтез лейкоцитами провоспалительных цитокинов. Известно, что ЛПС, обладающие высокой антагонистической активностью по отношению к эндотоксинам, часто встречаются у бактерий, филогенетически удаленных от семейства *Enterobacteriaceae*, основных возбудителей инфекций среди грамотрицательных бактерий. Ранее нами показано, что ЛПС диазотрофных бактерий рода *Azospirillum* проявляют широкий спектр биологического действия в отношении эукариотических клеток [6]. В работе Komanićska et al. показана низкая эндотоксическая активность ЛПС из *A. lipoferum* SpBr17 [7]. Однако исследования данных гликополимеров как потенциальных антагонистов ЛПС патогенных бактерий до настоящего времени не проводились. Поэтому целью нашей работы было сравнительное изучение токсичности и способности ЛПС азотфиксирующих микроорганизмов рода *Azospirillum* предотвращать вызванную ЛПС *Escherichia coli* O55:B5 (ЛПС<sub>E. coli</sub>) индукцию синтеза ФНО- $\alpha$  мононуклеарами периферической крови человека.

## Материалы и методы

В работе были исследованы ЛПС *A. lipoferum* Sp59b (ЛПС<sub>Sp59b</sub>), ЛПС *A. irakense* KBC1 (ЛПС<sub>KBC1</sub>) и КАЗ (ЛПС<sub>КАЗ</sub>), ЛПБК *A. irakense* KBC1 (ЛПБК<sub>KBC1</sub>) и его свободное от белка производное (ЛПБК<sub>KBC1 ПрК</sub>), а также ЛПС<sub>E. coli</sub> клинического штамма *E. coli* O55:B5 (Sigma). Все препараты использовались в концентрации 1 мкг/мл.

Анализ жирных кислот (ЖК), входящих в состав липида А исследуемых препаратов, проводили методом ГЖХ на хроматографе GC-2010 (Shimadzu, Япония) с капиллярной колонкой HP-5. Метилирование проводили по методу, описанному в работе Mayer [8].

Для избавления от белка к 0,5% раствору препарата ЛПБК<sub>KBC1</sub> в дистиллированной воде добавляли раствор протеиназы К (Sigma, 15 ед/мг), до конечной концентрации 100 мкг/мл. Реакционную смесь инкубировали 4 ч при 37 °С, 1 ч при 60 °С, затем центрифугировали 30 мин при 5 тыс. об/мин. Супернатант, содержащий ЛПБК<sub>KBC1 ПрК</sub>, собирали, диализовали против дистиллированной воды в течение суток и лиофильно высушивали.

Размер мицелл ЛПБК<sub>KBC1</sub> и его модифицированного производного определяли в водном растворе при 25 °С на дзета-сайзере (Malvern, Великобритания).

Острую токсичность определяли экспресс-методом на белых нелинейных мышах, предварительно сенсibilизированных 3,2% D-галактозамингидрохлоридом, при однократном внутривентральном введении гликополимеров. Наблюдение за животными проводили на протяжении 48 ч [9].

Мононуклеары выделяли из периферической крови условно здоровых доноров-добровольцев в градиенте плотности фиккол-урографин (1,077 г/л) стандартным методом [10]. Далее моноциты инкубировали с исследуемыми препаратами в среде 199 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки в течение 24 ч при 37 °С. Для изучения антагонистических свойств за 2 ч до добавления ЛПС<sub>E. coli</sub> мононуклеарные клетки стимулировали исследуемыми препаратами. Также осуществляли совместную инкубацию гликополимеров бактерий *Azospirillum* и ЛПС<sub>E. coli</sub> в соотношении 1:1. ФНО- $\alpha$  определяли в среде культивирования моноцитов с препаратами иммуноферментным методом с тест-системами на основе моноклональных антител производства



ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Результаты эксперимента подвергали статистической обработке.

### Результаты и их обсуждение

Как было сказано выше, гликополимеры, претендующие на роль антагонистов классических эндотоксинов, прежде всего, должны быть малотоксичными для человека и животных. В связи с этим мы определяли острую токсичность выбранных препаратов ЛПС азоспирилл на белых беспородных мышах (табл. 1).

Таблица 1

#### Определение острой токсичности исследуемых гликополимеров бактерий рода *Azospirillum*

Препарат	(LD <sub>50</sub> ), мкг/мышь
ЛПС <sub>Sp59b</sub>	8,9±1,1*
ЛПС <sub>КАЗ</sub>	5,5±0,5
ЛПС <sub>КВС1</sub>	4,5±0,5*
ЛПБК <sub>КВС1</sub>	148,0±3,0
ЛПБК <sub>КВС1</sub> ПрК	340,0±11,2

Примечание. \* – данные из работы [6].

LD<sub>50</sub>, рассчитанные для ЛПС<sub>КВС1</sub>, ЛПС<sub>КАЗ</sub> и ЛПС<sub>Sp59b</sub>, были примерно одинаковы (5–9 мкг/мышь), что значительно (около 30 раз) превышало LD<sub>50</sub> ЛПС<sub>E. coli</sub> (0.14 мкг/мышь).

Известно, что многие грамотрицательные микроорганизмы способны образовывать вокруг клеточной оболочки капсулу, в состав которой входят капсульные полисахариды, или синте-

зировать внеклеточные полисахариды – экзогликаны, играющие важную роль в инициации иммунологического ответа макроорганизма. Так, благодаря высокому отрицательному заряду, обусловленному КПС, энтеропатогенные бактерии обладают мощным разрушающим действием на комплимент и фагоциты. Кроме того, действие данных биополимеров усиливается энтеротоксинами белковой природы [11]. Ранее нами выделен и охарактеризован по химическому составу ЛПБК из капсульного материала *A. irakense* КВС1. Выяснено, что ЛПБК в капсуле является экстраклеточной формой ЛПС, и изолированный из него полисахарид идентичен О-специфическому полисахариду (ОПС) из ЛПС<sub>КВС1</sub> и построен из разветвленных гексасахаридных повторяющихся звеньев, содержащих остатки D-галактозы, L-рамнозы и D-маннозы [12]. С целью установления вклада белковой составляющей в реализацию иммуностимулирующей активности гликополимера капсулы азоспирилл ЛПБК<sub>КВС1</sub> обрабатывали протеиназой К, после чего оценивали его иммуномодулирующий эффект.

Установлено, что ЛПБК<sub>КВС1</sub> был приблизительно в 33 раза менее токсичен (148 мкг/мышь) по сравнению с ЛПС<sub>КВС1</sub>. Протеиназная обработка гликополимера капсулы привела к еще большему снижению токсичности относительно ЛПС того же штамма (340 мкг/мл).

Показано, что цитокининдуцирующая активность ЛПС<sub>КВС1</sub> абсолютно идентична таковой ЛПБК<sub>КВС1</sub> (рис. 1). Концентрация ФНО-α в

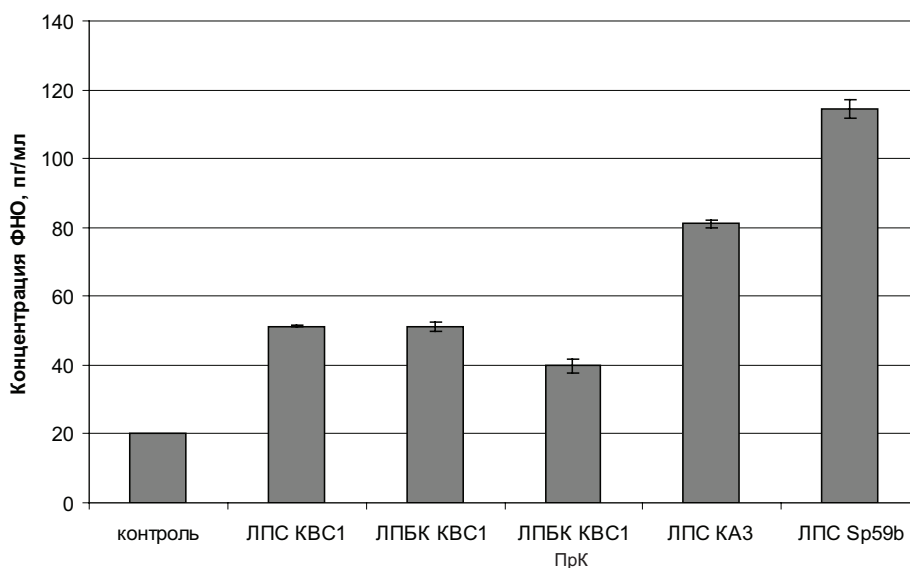


Рис. 1. Синтез ФНО-α человеческими мононуклеарами при добавлении исследуемых препаратов





среде инкубирования при добавлении данных препаратов достигала 51 пг/мл. Стимулирующий эффект ЛПБК<sub>КВС1</sub> прк был слабее, к 24 ч содержание цитокина в супернатантах составило 40 пг/мл, что в 2 раза выше по сравнению с контролем (20 пг/мл). ЛПС<sub>КАЗ</sub> индуцировал синтез ФНО- $\alpha$  моноклеарами человека до 80 пг/мл. Среди исследованных гликополимеров азоспирилл наибольшим стимулирующим эффектом обладал ЛПС<sub>Sp59b</sub> (115 пг/мл). Тем не менее, его цитокин-индуцирующая активность была ниже почти в 3 раза в сравнении с действием ЛПС<sub>E. coli</sub> (300 пг/мл).

Согласно литературным данным, проявляемая эндотоксином биологическая активность зависит от особенностей его структуры и, прежде всего, от строения липидной составляющей данной молекулы [13]. В связи с этим нами был проведен анализ профилей ЖК исследуемых гликанов.

Методом ГЖХ после метанолиза в составе липидов А ЛПС и ЛПБК были идентифицированы предельные, непредельные алкановые и гидроксилалкановые кислоты с длиной цепи от C<sub>12</sub> до C<sub>18</sub> (табл. 2). Установлено, что состав и соотношение ЖК в гликополимерах *A. irakense* были практически идентичны, за исключением отсутствия в ЛПС<sub>КВС1</sub> гексадекановой кислоты и наличия в ЛПБК<sub>КВС1</sub> 2-гидрокситетрадекановой (8%) и октадеценновой (11%) кислот. Во всех исследованных препаратах штаммов *A. irakense* доминирующими по содержанию были додекановая (9–12%), 3-гидрокситетрадекановая (43–61%) и 3-гидроксигексадекановая (13–24%)

кислоты. Профиль ЖК ЛПС<sub>Sp59b</sub> отличался как по качественному, так и по количественному содержанию от состава ЖК вышеуказанных препаратов. В липиде А ЛПС<sub>Sp59b</sub> преобладающими были додекановая (21%) и 3-гидроксидодекановая (31%) кислоты. Также в данном гликане приблизительно в равном количестве (8–13%) идентифицированы 2-гидроксидодекановая, 3-гидрокситетрадекановая, гексадекановая и октадеценновая жирные кислоты. Показанные вариации в структуре липидной компоненты исследуемых препаратов сделали их удобной моделью для изучения их структурно-функциональных свойств и установления вклада отдельных ЖК в реализацию гликополимерами азоспирилла биологической активности.

Известно, что для липида А классического эндотоксина ЛПС *E. coli* характерны жирные кислоты с 14 и 12 углеродными атомами, при этом преобладающей по содержанию является 3-ОН-С<sub>14:0</sub>. Любое отклонение в сторону увеличения или уменьшения длины цепей ЖК, а также степени ацилирования липидного домена ЛПС приводит к значительному изменению его эндотоксической активности [13]. В гликополимерах штамма *A. irakense*, как и в ЛПС *E. coli*, обнаружена С<sub>12:0</sub>, а преобладающей по содержанию является 3-ОН-С<sub>14:0</sub>. Однако присутствие в ЛПС<sub>КВС1</sub>, ЛПС<sub>КАЗ</sub> и ЛПБК<sub>КАЗ</sub> жирных кислот с 16 и 18 углеродными атомами, вероятно, стало причиной снижения токсичности и цитокин-индуцирующей активности по сравнению с ЛПС<sub>E. coli</sub>.

Таблица 2

Соотношение жирных кислот в исследуемых препаратах гликополимеров бактерий рода *Azospirillum*

Жирные кислоты	Содержание МЭЖК, % от суммы площадей всех пиков			
	ЛПС <sub>Sp59b</sub> *	ЛПС <sub>КАЗ</sub>	ЛПС <sub>КВС1</sub>	ЛПБК <sub>КВС1</sub>
Додекановая (C <sub>12:0</sub> )	21,5±3,4	11,7±2,9	10,2±1,7	9,0±1,3
2-Гидроксидодекановая (2-ОН-С <sub>12:0</sub> )	11,1±1,2	–	–	–
3-Гидроксидодекановая (3-ОН-С <sub>12:0</sub> )	31,9±0,7	–	–	–
2-Гидрокситетрадекановая (2-ОН-С <sub>14:0</sub> )	–	–	–	8,1±0,1
3-Гидрокситетрадекановая (3-ОН-С <sub>14:0</sub> )	11,5±2,5	68,9±2,0	61,4±2,4	42,5±0,3
Гексадекановая (C <sub>16:0</sub> )	12,8±0,4	6,9±0,9	–	5,6±0,2
3-Гидроксигексадекановая (3-ОН-С <sub>16:0</sub> )	–	12,6±2,2	28,5±2,0	23,7±0,1
Октадеценновая (C <sub>18:1</sub> )	8,4±2,2	–	–	11,2±0,9

Примечание. «–» – ЖК отсутствовали; \* – данные из работы [14].



Гликополимеры исследованных штаммов *A. irakense* характеризовались наличием идентичных ОПС и незначительными отличиями в составе и соотношении ЖК их липидов А. ЛПС<sub>КВС1</sub> и ЛПС<sub>КАЗ</sub> реализовывали одинаковую токсичность в отношении теплокровных животных, однако ЛПС<sub>КАЗ</sub> в 1,6 раза сильнее индуцировал синтез ФНО- $\alpha$  человеческими мононуклеарами. Данный результат свидетельствует о том, что присутствие в липиде А С<sub>16:0</sub> не оказывает влияние на токсичность, но, возможно, вносит вклад в агонистические свойства данного гликополимера. Рассчитанная для ЛПБК<sub>КВС1</sub> LD<sub>50</sub> была намного выше, по сравнению с LD<sub>50</sub>, установленными для ЛПС *A. irakense*. Удаление белковой составляющей из ЛПБК<sub>КВС1</sub> не приводило к восстановлению токсичных свойств до уровня ЛПС<sub>КВС1</sub> и ЛПС<sub>КАЗ</sub>, но в то же время не оказывало существенного влияния на цитокинстимулирующую активность производного, по сравнению с ЛПС того же штамма. Данный факт позволил выдвинуть предложение, что идентифицируемые в ЛПБК<sub>КВС1</sub> 2-ОН-С<sub>14:0</sub> и С<sub>18:1</sub>, вероятнее всего, определяют крайне низкую токсичность данного гликана, но не вносят существенных изменений в его цитокинстимулирующие свойства.

Неожиданным оказался факт снижения токсичности после обработки исследуемого ЛПБК протеиназой К. Возможно, что наблюдаемый эффект связан с изменением после протеиназной обработки специфической конформации молекулы ЛПБК и, как следствие, с интенсификацией мицеллообразования, затрудняющего взаимодействие ЛПБК<sub>КВС1</sub> прк с рецепторами клеточной поверхности моноцитов. Для подтверждения данной теории был проведен эксперимент по определению размера мицелл ЛПБК и его модифицированного производного. Полученные результаты свидетельствуют об уменьшении среднего диаметра мицелл с 104 до 79 нм и снижении гетерогенности частиц по размеру после модификации. Данный факт подтверждает наличие изменений в конформации молекулы ЛПБК, что, возможно, послужило причиной снижения токсичности препарата (увеличения в 2 раза LD<sub>50</sub>).

Различное влияние протеиназной обработки на биологическую активность ЛПБК<sub>КВС1</sub> *in vivo* и *in vitro* можно объяснить тем, что ЛПС [6] и ЛПБК *A. irakense* КВС1 являются активными индукторами синтеза оксида азота в спленocyтах мышей. Установлено, что удаление белковой

компоненты из ЛПБК<sub>КВС1</sub> приводило к снижению продукции NO в 2 раза по сравнению с нативным препаратом [12]. Значительная стимуляция синтеза NO может отражать развитие токсигенной реакции макроорганизма на эндотоксин, что может служить объяснением наблюдаемой корреляции между результатами по индукции NO и значениями LD<sub>50</sub> для ЛПБК<sub>КВС1</sub> и ЛПБК<sub>КВС1</sub> прк.

Сравнительное изучение способности стимулировать продукцию ФНО- $\alpha$  мононуклеарными клетками препарата ЛПС<sub>Sp59b</sub> показало, что он является более сильным индуктором по сравнению с гликополимерами бактерий *A. irakense*. Полученный результат был предсказуем, учитывая кардинальные отличия в профилях ЖК указанных гликанов. Кроме того, для ЛПС и ЛПБК представителей *A. irakense* было отмечено низкое содержание фосфора (0,3–0,5%) в отличие от ЛПС<sub>Sp59b</sub>, содержание фосфора в котором достигает почти 3%. Согласно данным литературы, эндотоксическая активность зависит не только от состава и соотношения ЖК, но и от степени фосфорилирования ЛПС. Так, замена двух фосфатных групп на остатки галактозамина в липиде А *Aquifex pyrophilus* предположительно является одним из структурных факторов, определяющих низкую способность ЛПС этой бактерии активировать моноциты человека [15]. Химическая модификация ЛПС с помощью дефосфорилирования плавиковой кислотой также приводит к существенному снижению его биологической активности [16].

Полученные результаты свидетельствовали о слабой токсичности и умеренной провоспалительной активности гликополимеров бактерий рода *Azospirillum*, что явилось предпосылкой для исследования антагонистических свойств данных препаратов.

Преинкубация мононуклеарных клеток с исследуемыми гликанами значительно снижала стимулируемую классическим эндотоксином продукцию ФНО- $\alpha$  (рис. 2). Следует отметить, что цитокингипирующая активность ЛПС<sub>КАЗ</sub>, ЛПС<sub>КВС1</sub> и ЛПБК<sub>КВС1</sub> прк была примерно на одном уровне (~60 пг/мл), а наибольшим ингибирующим эффектом обладали ЛПС<sub>Sp59b</sub> и ЛПБК<sub>КВС1</sub> (40 и 45 пг/мл соответственно). Ранее при исследовании динамики синтеза ФНО- $\alpha$  в процессе фагоцитоза *E.coli* Ca 53 нами показано, что содержание цитокина в культуральной среде в присутствии ЛПС некоторых штаммов



азоспирилл (в том числе и ЛПС<sub>КВС1</sub>) возрастает уже к 2 ч инкубации. А ЛПС, выделенный из *A. brasilense* Sp245, в концентрации 1 мкг/мл стимулировал синтез цитокина мононуклеарами периферической крови человека до 65 пг/мл уже к 1 ч процесса фагоцитоза [17]. Данный факт в совокупности с результатами эксперимента свидетельствуют о том, что гликаны бактерий рода *Azospirillum* способны в короткие сроки эффективно связываться с рецепторами клеточ-

ной поверхности мононуклеаров, что, в свою очередь, препятствует взаимодействию ЛПС<sub>E. coli</sub> с клетками-мишенями и чрезмерной продукции ФНО-α. Однако простая маскировка рецепторного аппарата от эндотоксина-индуктора не является основным механизмом антагонистической активности биогликанов азоспирилл, что подтверждается в эксперименте по одновременной стимуляции исследуемых препаратов и ЛПС<sub>E. coli</sub> в соотношении 1:1 в культуре моноцитов.

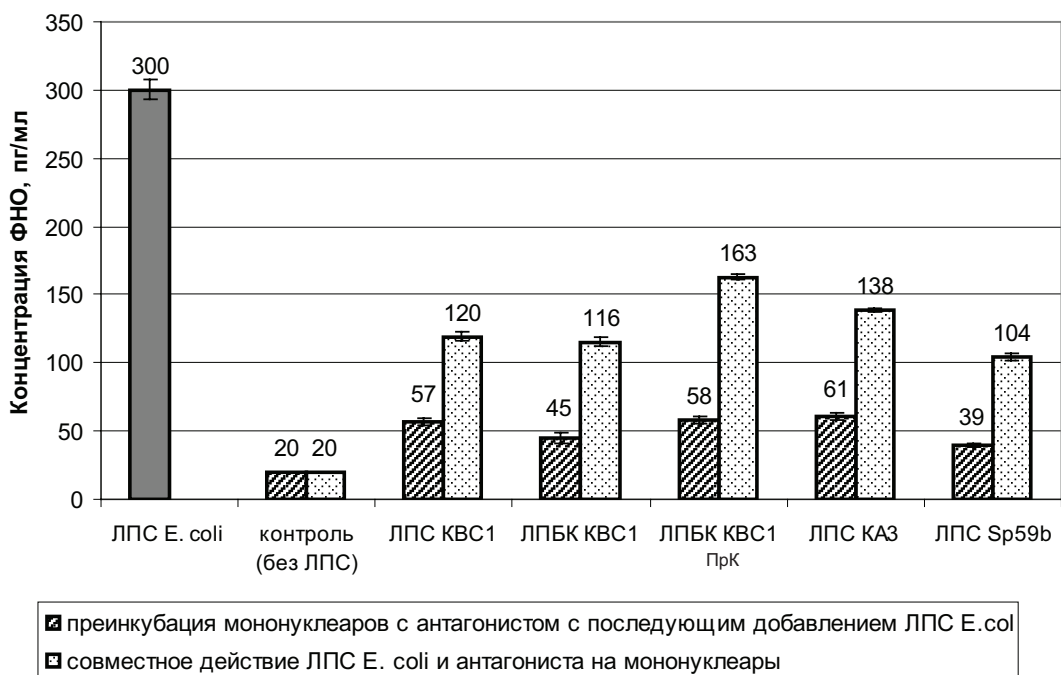


Рис. 2. Цитокинингибирующая активность гликополимеров бактерий рода *Azospirillum* в отношении ЛПС *E. coli* O55:B5

Установлено, что гликополимеры азоспирилл при совместной инкубации с ЛПС<sub>E. coli</sub> в среде культивирования мононуклеаров проявляли антагонистические свойства в отношении данного эндотоксина. При этом ЛПС<sub>КВС1</sub> и ЛПБК<sub>КВС1</sub>, как и в эксперименте по стимуляции синтеза ФНО-α, обладали идентичной активностью, а ингибирующий потенциал ЛПС<sub>КА3</sub> был несколько ниже данных препаратов, что также коррелирует с его более высокой агонистической активностью. Способность подавлять индуцированную ЛПС<sub>E. coli</sub> продукцию цитокина при совместной инкубации увеличивалась в ряду ЛПБК<sub>КВС1</sub> ПрК → ЛПС<sub>КА3</sub> → ЛПС<sub>КВС1</sub>, ЛПБК<sub>КВС1</sub> → ЛПС<sub>Sp59b</sub>. Наиболее слабым ингибитором ЛПС<sub>E. coli</sub> оказался ЛПБК<sub>КВС1</sub> ПрК, хотя в эксперименте по преинкубации он оказался одним из сильнейших антагонистов, что, однако,

можно объяснить его низкой цитокининдуцирующей способностью. При сохранении способности взаимодействовать с моноцитами и синтезировать ФНО-α данный гликополимер значительно уступает остальным препаратам в конкурирующих свойствах за рецепторный аппарат мононуклеаров периферической крови человека. Низкая активность ЛПБК<sub>КВС1</sub> ПрК при совместной инкубации с индуктором может быть обусловлена «сбоем» на любом этапе его взаимодействия с рецепторами макроорганизма, начиная с первого звена – ЛВР.

Несмотря на наивысшую среди исследованных препаратов степень индукции синтеза цитокина, ЛПС<sub>Sp59b</sub> показал самую высокую антагонистическую активность как в эксперименте по преинкубации, так и при совместной инкубации с ЛПС<sub>E. coli</sub>. Полученный результат не вызывает удивления, учитывая кардинальные



отличия в химической структуре и прежде всего в жирнокислотном составе липидной компоненты ЛПС<sub>Sp59b</sub> и гликанов представителей *A. irakense*. Из данных литературы известно, что липиды А, проявляющие высокий антагонизм по отношению к эндотоксинам, имеют низкую степень фосфорилирования и ацилирования [18]. Однако ЛПС<sub>Sp59b</sub> характеризовался относительно высоким содержанием фосфора, в связи с чем проявляемый антагонизм можно объяснить его ЖК профилем. В работе Brandenburg et al. показано, что липид А *Rhodobacter capsulatus*, содержащий более короткие по сравнению с *E. coli* ЖК, включая одну непредельную карбоновую кислоту, проявляет антагонистические свойства [14]. В липиде А ЛПС<sub>Sp59b</sub> идентифицирована одна ненасыщенная кислота, а на долю ЖК с числом углеродных атомов меньше 14 в гидрофобном домене молекулы приходится ~65%. Возможно, подобное строение послужило структурным базисом для проявления гликополимером характерных для него активностей. Интересен тот факт, что концентрация ФНО- $\alpha$  в среде культивирования моноцитов при стимуляции ЛПС<sub>Sp59b</sub> за 2 ч до внесения ЛПС<sub>E. coli</sub> была в 3 раза ниже по сравнению с результатом, полученным при одностороннем инкубировании ЛПС<sub>Sp59b</sub> с мононуклеарными клетками. Вероятно, присутствие ЛПС<sub>Sp59b</sub> и ЛПС<sub>E. coli</sub> в равном соотношении способствует образованию в реакционной среде смешанных мицелл. Благодаря этому снижается доступность для LBP и скорость доставки к рецепторному аппарату клеток-мишеней макроорганизма, в результате чего снижается цитокининдуцирующая активность обоих препаратов. Данный факт, возможно, указывает на то, что ЛПС<sub>Sp59b</sub> осуществляет свою ингибирующую активность в отношении ЛПС<sub>E. coli</sub> не только по механизму конкурентного, но и неспецифического ингибирования. Изложенное свидетельствует о том, что на современном этапе изучения отличительных особенностей ЛПС бактерий предпочтение следует отдать методам установления их свойств, которые могут определяться не только химической структурой, но и конформацией молекулы.

Проведенное исследование гликанов представителей *A. irakense* позволяет сделать вывод о том, что незначительные вариации в их липидах А не оказывают существенного влияния на проявление данными биополимерами антагонистической активности. Тем не менее, изменения в конформации молекулы могут привести к значительному снижению ее ингибирующих

свойств, что показано на примере ЛПБК<sub>КВС1</sub> и его модифицированного производного. Наблюдаемая биологическая активность гликанов азоспирилл в отношении ЛПС<sub>E. coli</sub>, вероятно, осуществляется по механизму конкурентного ингибирования. Как было сказано выше, активация моноцитов липополисахаридами – это сложный многоступенчатый процесс с образованием промежуточных комплексов и вовлечением множества молекул-посредников. Ингибирование классического эндотоксина гликанами-антагонистами может осуществляться на основных этапах распознавания ЛПС клеткой-мишенью: 1) на этапе взаимодействия ЛПС с LBP; 2) при связывании с молекулой CD14; 3) и, наконец, при образовании рецепторного комплекса, способного к проведению сигнала. На каком из этапов реализуется антагонистическая активность исследуемых препаратов, предстоит выяснить в дальнейших исследованиях.

Полученные в ходе выполнения данной работы результаты свидетельствуют об умеренной иммуномодулирующей активности гликополимеров ризобактерий. Изученные биополимеры безопасны для человека и животных и являются потенциальными антагонистами ЛПС<sub>E. coli</sub>, что может быть применено в медицинской практике для создания на их основе препаратов коррекции иммунного ответа макроорганизма. Наиболее перспективным в данном плане является ЛПС<sub>Sp59b</sub>, показавший низкую токсичность в эксперименте с лабораторными животными и наибольшую ингибирующую активность в отношении классического эндотоксина *E. coli* O55:B5.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 11-04-00533а).

#### Список литературы

1. Janeway C., Jr., Medzhitov R. Innate immune recognition // Annu. Rev. Immunol. 2002. Vol. 20. P. 197–216.
2. Moresco E., LaVine D., Beutler B. Toll-like receptors // Curr. Biol. 2011. Vol. 21, № 13. P. 488–493.
3. Heumann D., Roger T. Initial responses to endotoxins and Gram-negative bacteria // Clin. Chim. Acta. 2002. Vol. 323. P. 59–72.
4. Alexander C., Rietschel E. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity // J. Endotoxin. 2001. Vol. 7, № 3. P. 167–202.
5. Llewelyn M., Cohen J. Tracking the microbes in sepsis: advancements in treatment bring challenges for microbial epidemiology // Clin. Infect. Dis. 2007. Vol. 44, № 10. P. 1343–1348.
6. Фомина А. А., Петров А. В., Коннова С. А., Бойко А. С., Федоненко Ю. П., Тихомирова Е. И., Симбирцев А. С. Особенности строения и биологические



- свойства липополисахаридов азоспирилл в отношении активации факторов неспецифической резистентности макроорганизма // Цитокины и воспаление. 2009. Т. 8, № 4. С. 23–27.
7. *Komaniecka I., Zdzisinska B., Kandefor-Szerszen M., Choma A.* Low endotoxic activity of lipopolysaccharides isolated from *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, and *Azospirillum* strains // *Microbiol. Immunol.* 2010. Vol. 54. P. 717–725.
  8. *Mayer H., Tharanathan R., Weckesser J.* Analysis of lipopolysaccharides of gram-negative bacteria // *Meth. Microbiol.* 1985. Vol. 18. P. 157–207.
  9. *Прозоровский В. Б., Прозоровская М. П., Демченко В. М.* Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки // *Фармакология и токсикология.* 1978. № 4. С. 497–502.
  10. Иммунология. Практикум : учеб. пособие / под ред. Л. В. Ковальчука, Г. А. Игнатъевой, Л. В. Ганковской. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. 176 с.
  11. *Оводов Ю. С.* К-антигены бактерий. Строение К-антигенов бактерий (обзор) // *Биохимия.* 2006. Т. 71, № 9. С. 1155–1174.
  12. *Fedonenko Y. P., Burygin G. L., Popova I. A., Sigida E. N., Surkina A. K., Zdorovenko E. L., Konnova S. A.* Immunochemical Characterization of the Capsular Polysaccharide of *Azospirillum irakense* KBC1 // *Curr. Microbiol.* 2013. doi: 10.1007/s00284-013-0346-1.
  13. *Rietschel E., Kirikae T., Schade F., Mamat U., Schmidt G., Loppnow H., Ulmer A., Zähringer U., Seydel U., Di Padova F., Schreier M., Brade H.* Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function // *FASEB J.* 1994. Vol. 8. P. 217–225.
  14. *Смолькина О. Н., Качала В. В., Федоненко Ю. П., Бурьгин Г. Л., Здорovenko Э. Л., Матора Л. Ю., Коннова С. А., Игнатов В. В.* Капсульный полисахарид бактерии *Azospirillum lipoferum* Sp59b. Структура и антигенная специфичность // *Биохимия.* 2010. Т. 75, № 5. С. 707–716.
  15. *Кабанов Д. С., Прохоренко И. Р.* Связь между физико-химическими характеристиками и биологической активностью липополисахаридов // *Биологические мембраны.* 2011. Т. 28, № 5. С. 323–338.
  16. *Brandenburg K., Andrä J., Müller M., Koch M. H., Garidel P.* Physicochemical properties of bacterial glycopolymers in relation to bioactivity // *Carbohydr. Res.* 2003. Vol. 338, № 23. P. 2477–2489.
  17. *Фомина А. А.* Влияние бактериальных гликополимеров на функционально-метаболический статус лейкоцитов и активность ключевых ферментов метаболизма мышей : дис. ... канд. биол. наук. Саратов, 2010. 149 с.
  18. *Воробьева Е. В., Красикова И. Н., Соловьева Т. Ф.* Влияние липополисахаридов и липидов А из некоторых морских бактерий на индукцию спонтанного и индуцированного липополисахаридом из *Escherichia coli* синтеза ФНО- $\alpha$  клетками периферической крови человека // *Биохимия.* 2006. Т. 71, № 7. С. 936–944.

УДК 581.9 (470.44)

## ВИДОВОЙ СОСТАВ РОДА *SALIX* L. НА АНТРОПОГЕННЫХ МЕСТООБИТАНИЯХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Е. В. Угольников, М. А. Березуцкий, А. С. Кашин

УНЦ «Ботанический сад» СГУ, Саратов  
E-mail: cat.ugolnikova@yandex.ru

Приводятся данные о видовом составе р. *Salix* L. на антропогенных местообитаниях Саратовской области.

**Ключевые слова:** антропогенные местообитания, *Salix*.

### Species Composition of *Salix* L. on Anthropogenic Habitats of Saratov Region

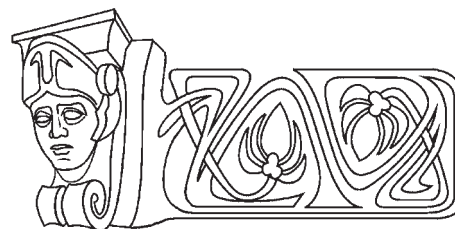
E. V. Ugolnikova, M. A. Berezutsky, A. S. Kashin

The information about species composition of *Salix* L. in anthropogenic habitats of Saratov region is given.

**Key words:** the anthropogenic habitats, *Salix*.

В последние столетия территория Саратовской области подвергалась интенсивному и многофакторному антропогенному воздействию. Одним из важнейших проявлений этого воздействия явля-

ется резкое увеличение площади антропогенных биотопов. К настоящему времени площадь антропогенных биотопов на территории Саратовской области превышает площадь естественных. Только под землями прямого сельскохозяйственного назначения находится 85% её площади. В этих условиях на первый план выходит задача выяснения степени толерантности того или иного вида растений региона к антропогенному воздействию и способности его произрастать на антропогенных местообитаниях. На территории Саратовской области уже начата работа по выявлению степени антропотолерантности отдельных таксонов [1, 2]. Однако в отношении подавляющей части таксонов растений региона такие исследования еще не проведены.





В настоящей работе мы приводим данные по видовому составу рода ива (*Salix* L.) на антропогенных местообитаниях Саратовской области. В литературе по флоре Саратовской области приведены очень скудные сведения по этому вопросу. В частности, в последнем по времени издания «Конспекте флоры Саратовской области» [3] указывается лишь, что ива козья (*S. caprea* L.) выращивается в лесополосах. Нужно учитывать, что ивы широко используются в народном хозяйстве и незаменимы для закрепления берегов рек, плотин, склонов [4], противопожарных посадок [5, 6], а в степном лесоразведении – для закрепления сыпучих песков. Представители рода также используются как кормовые, лекарственные растения, являются прекрасными медоносами, естественными дубителями, источником дешевой древесины (строевой и поделочный материал). Кроме того, некоторые виды ив довольно декоративны и с успехом используются при озеленении городов и сел [4, 7]. Поэтому естественно, что многие виды ив выращивают на специальных плантациях, в городах, посадках, оврагах, вдоль железнодорожных путей и пр.

Нами обнаружено, что в антропогенных биотопах встречаются 9 из 12 видов рода *Salix*, произрастающих в Саратовской области:

*S. pentandra* – г. Саратов, пос. Тепличный, пруды; Екатериновский р-н, окр-ти с. Андреевка, придорожная насыпь.

*S. alba* – окр-ти г. Саратова, ж/д насыпь; г. Саратов, пос. Тепличный, пруды; Татищевский р-н, пойма р. Ильиновка, придорожная насыпь; окр-ти с. Карамышка, придорожный кювет; пойма р. М. Идолга, придорожный кювет; окр-ти с. Кувыка, посадки, 1 экз. семенного происхождения; Балаковский р-н, окр-ти с. Маянга, придорожный кювет.

*S. fragilis* – г. Саратов, пос. Тепличный, пруды; Татищевский р-н, окр-ти с. Октябрьский городок, пруд; пойма р. М. Идолга, окр-ти с. Татищево, придорожный кювет; Аткарский р-н, окр-ти с. Приречное, ж/д насыпь; полоса отчуждения ж/д.

*S. vinogradovii* – окр-ти г. Саратова, ж/д насыпь; г. Саратов, дренажный канал у ж/д насыпи; сквер «Победы».

*S. triandra* – г. Саратов, пос. Тепличный, пруды; полоса отчуждения ж/д; окр-ти г. Саратова, ж/д насыпь; Балаковский р-н, окр-ти с. Маянга, придорожный кювет; Федоровский р-н, окр-ти с. Мокроус, придорожный кювет.

*S. cinerea* – г. Саратов, пос. Тепличный, пруды; полоса отчуждения ж/д; окр-ти г. Саратова, ж/д насыпь; Петровский р-н, окр-ти г. Петровск,

придорожный кювет; Татищевский р-н, окр. ст. Курдюм, песчаный карьер.

*S. caprea* – г. Саратов, пос. Тепличный, пруды; Татищевский р-н, окр-ти с. Ягодная поляна, придорожный кювет; окр г. Саратова, искусственные сосновые насаждения, несколько экз. семенного происхождения.

*S. dasyclados* – Татищевский р-н, пойма р. Ильиновка, придорожная насыпь; Ртищевский р-н, окр-ти с. Подгоренка, придорожная насыпь; Петровский р-н, окр-ти г. Петровск, придорожный кювет.

*S. acutifolia* – Лысогорский р-н, окр-ти с. Николаевка, придорожная насыпь; Балашовский р-н, окр-ти с. Репное, придорожная насыпь; Лысогорский р-н, окр-ти с. Шереметьевка, песчаный карьер.

Декоративная *S. babylonica* широко культивируется в городских парках и лесопарках, в селах и деревнях, но самосева не дает, потому что, как оказалось, в Саратовской области высажены только мужские растения. При этом *S. babylonica* способна к активному вегетативному возобновлению, как это наблюдается, например, в пойме р. Волга в окрестностях г. Энгельс.

В отношении способности к апомиксическому воспроизводству исследованы растения из популяций 10 видов рода. По причине отсутствия на территории региона женских растений не исследовались растения *S. babylonica*. Не исследованы и растения *S. pentandra* по причине чрезвычайной редкости на территории региона женских экземпляров этого вида. Среди исследованных видов корреляции между встречаемостью на антропогенных местообитаниях и способностью к гаметофитному апомиксису не обнаружено (таблица). Растения четырех видов, проявляющие способность к гаметофитному апомиксису, не отмечены на антропогенных территориях (*S. caprea*, *S. triandra*, *S. rosmarinifolia*, *S. caspica*), в то время как растения двух видов, встречающихся на антропогенных территориях (*S. dasyclados*, *S. alba*), не проявляют способности к гаметофитному апомиксису [8].

Таким образом, по результатам наших наблюдений, 8 видов рода *Salix* встречаются на техногенных местообитаниях (железнодорожные и автомобильные насыпи, придорожные кюветы, полосы отчуждения, песчаные карьеры), 2 вида отмечены в искусственных лесных насаждениях, 6 видов – в пригородной зоне прудов и 1 – в городской (селитебной) зоне. При этом, в отличие от кустарниковых форм, все древесные виды ив, произрастающие в Саратовской области, встречаются в антропогенных биотопах.



**Встречаемость растений видов рода *Salix* на антропогенных местообитаниях в связи со способностью их к гаптомитному апомиксису**

№	Вид рода <i>Salix</i>	Встречаемость на антропогенных местообитаниях	Способность к апомиксическому воспроизводству
1	<i>S. acutifolia</i> Willd.	+	+
2	<i>S. caprea</i> L.	–	+
3	<i>S. cinerea</i> L.	+	+
4	<i>S. Vinogradovii</i> A. Skvorts	+	+
5	<i>S. triandra</i> L.	–	+
6	<i>S. rosmarinifolia</i> L.	–	+
7	<i>S. dasyclados</i> Wimm.	+	–
8	<i>S. fragilis</i> L.	+	+
9	<i>S. caspica</i> Pall.	–	+
10	<i>S. alba</i> L.	+	–

По данным Красной книги Саратовской области [9], 3 вида рода относятся к редким и исчезающим (*S. pentandra*, *S. Starke*, *S. dasyclados*). К настоящему моменту выявлено, что *S. dasyclados* произрастает в 10 административных районах Саратовской области [10, 11]. В связи с тем что данный вид имеет более широкое распространение, чем указывает «Красная книга Саратовской области», и активно осваивает антропогенные местообитания, возможно, стоит рассмотреть вопрос о выведении его из основного списка «Красной книги...» и включении его в приложение № 1 «Аннотированного перечня таксонов и популяций растений, исключенных из Красной книги Саратовской области».

**Список литературы**

1. Березуцкий М. А., Павловский А. М. Особенности распространения и некоторые аспекты экологии папоротниковидных в антропогенных местообитаниях на севере Нижнего Поволжья // Поволж. экол. журн. 2009. № 1. С. 62–64.
2. Березуцкий М. А., Решетникова Т. Б., Серова Л. А., Кашин А. С. Экологическая деспециализация видов семейства Orchidaceae Juss. на территории севера Нижнего Поволжья // Поволж. экол. журн. 2012. № 4. С. 455–458.
3. Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Конспект флоры Саратовской области. Саратов : Наука, 2008. С. 69.
4. Керн Э. Э. Ива. Л. : Изд-во Ин-та растениеводства, 1932. 96 с.
5. Морозов И. Р. Пойменные ивняки и их использование. М. ; Л. : КОИЗ, 1936. 88 с.
6. Морозов И. Р. Ивы СССР, их использование и применение в защитном лесоразведении. М. ; Л. : Гослесбумиздат, 1950. 168 с.
7. Валягина-Малюткина Е. Т. Ивы Европейской части России. М. : Тов. науч. изданий КМК, 2004. 217 с.
8. Угольникова Е. В., Кашин А. С. Особенности репродуктивной биологии видов *Salix* (Salicaceae) в Саратовской области // Бот. журн. 2013. Т. 98, № 6. С. 723–733.
9. Красная книга Саратовской области : Грибы. Лишайники. Растения. Животные / Комитет охраны окружающей среды и природопользования Саратов. обл. Саратов : Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. 528 с.
10. Угольникова Е. В. Новые местонахождения охраняемых видов рода ива (*Salix* L.) на территории Саратовской области // Бюл. Бот. сада. СГУ. 2010. Вып. 9. С. 30–31
11. Угольникова Е. В. К изучению распространения ивы шерстистопобеговой (*Salix dasyclados* Wimm.) на территории Саратовской области // Науч. тр. Нац. парка «Хвалынский». Саратов ; Хвалынский : Изд. центр «Наука», 2011. Вып. 3. С. 91–93.



## ЭКОЛОГИЯ

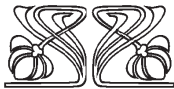
УДК 574.587(470.44)

### ФЕНОЛОГИЯ ВЫЛЕТА И СООТНОШЕНИЕ ПОЛОВ В ПОПУЛЯЦИЯХ ГЕТЕРОТОПНЫХ НАСЕКОМЫХ ПОЙМЕННЫХ ОЗЁР ДОЛИНЫ РЕКИ ВОЛГИ

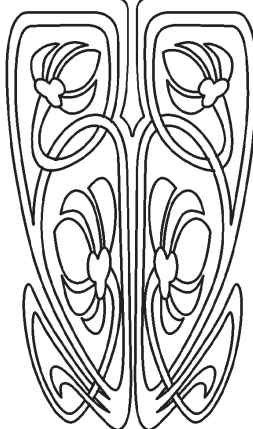
И. В. Демина<sup>1</sup>, М. В. Ермохин<sup>1</sup>, Н. В. Полуконова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет  
E-mail: marka26@yandex.ru

<sup>2</sup>Саратовский государственный медицинский университет  
E-mail: ecoton@rambler.ru



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ



Вылет гетеротопных насекомых из пойменных озёр долины реки Волги начинается во второй – третьей декаде апреля, заканчивается – во второй декаде сентября. Установлена вольтинность вылета 15 видов насекомых. Для *Endochironomus albipennis* Meigen, 1830 (Chironomidae, Diptera) и *Chaoborus flavicans* Meigen, 1830 (Chaoboridae, Diptera) определены соотношения полов в популяциях в период метаморфоза.

**Ключевые слова:** фенология, гетеротопные насекомые, вылет, пойменные озёра, вольтинность вылета, Chironomidae.

#### The Phenology of Emergence and the Sex Ratio of Heterotopic Insect Populations from Flood Lakes of the Volga River Valley

I. V. Demina, M. V. Yermokhin, N. V. Polukonova

The emergence of heterotopic insects from floodplain lakes of the valley of the Volga River started in the second – the third decade of April and ends – the second decade of September. The voltinism of 15 species of heterotopic insects was established. For *Endochironomus albipennis* Meigen, 1830 (Chironomidae, Diptera) and *Chaoborus flavicans* Meigen, 1830 (Chaoboridae, Diptera) determined the sex ratio in the population during the period of metamorphosis.

**Key words:** phenology, heterotopic insects, emergence, floodplain lakes, voltinism, Chironomidae.

Вылет имаго гетеротопных насекомых из пресноводных водоемов европейской части России исследован в основном на крупных водохранилищах [1–3], а также в болотных экосистемах [4, 5] и олиготрофных северных озерах [6]. Количественный и качественный анализ вылета имаго гетеротопных насекомых из пойменных озёр долины реки Волги ранее не проводился, поэтому отсутствуют данные как о вольтинности вылета (количестве генераций), так и сезонных явлениях в жизненном цикле гетеротопных насекомых в этих водоемах. Однако такие сведения необходимы для характеристики потоков вещества и энергии между водной и наземной экосистемами, так как они позволят проанализировать сезонную динамику потоков, установить периоды времени наибольшего переноса вещества и энергии, а также определить виды, которые вносят наиболее существенный вклад во взаимодействие водной и наземной экосистем. Немаловажным фактором, определяющим величину потоков между экосистемами, служит соотношение полов в популяциях гетеротопных насекомых в период метаморфоза. Многим видам этой группы насекомых свойственен половой диморфизм в линейных размерах и индивидуальном весе [7, 8], в связи с





чем сроки вылета имаго каждого пола влияют на величину выноса вещества и энергии из водной экосистемы в наземную.

Цель данной работы – изучить особенности фенологии вылета гетеротопных насекомых пойменных озёр долины реки Волги и соотношение полов в популяциях массовых видов.

### Материал и методы

Исследования проводили на пойменных озёрах Холодное, Ленивое и Садок, расположенных в левобережной части долины Волги (Саратовская обл.). Озеро Холодное (51°28'42" с.ш., 46°03'54" в.д.) – небольшая старица овальной формы (площадь – 1.6 га; ложе корытообразной формы; средняя глубина 1.2 – 1.5 м; грунты – черный ил с растительными остатками, в прибрежной зоне с примесью грубого детрита). Данный водоём освобождался от ледового покрова в середине апреля, ледовый покров устанавливался во второй декаде ноября. Озеро имело родниковое питание, температура в придонном слое не выше 23 °С, на поверхности достигала 28 °С (июль 2008 г., глубина 1.5 м).

Озеро Садок (51°28'33" с.ш., 46°04'11" в.д.) – небольшая старица округлой формы (площадь поверхности – 0.28 га с ложем чашеобразной формы, глубина до 1.0 – 1.2 м; грунты – черные илы с растительными остатками; характерно сильное зарастание высшей водной растительностью). Время освобождения водоема ото льда – первая декада апреля, время установления ледяного покрова – вторая декада ноября. Зимой водоём промерзал до дна. Максимальная температура в придонном слое в летний период – 27 °С (глубина 1 м, июль 2008 г.).

Озеро Ленивое (51°28'41" с.ш., 46°04'01" в.д.) – небольшая старица овальной формы (площадь – 1.1 га, глубина – до 1.2 м; грунты – черные илы с растительными остатками и грубодетритные илы). Время освобождения водоема ото льда – первая декада апреля, время установления ледяного покрова – вторая декада ноября. В зимний период водоем промерзает до дна. Максимальная температура в придонном слое в летний период – 25 °С (глубина 1.3 м, июль 2008 г.). Летом акватория озёр Садок и Ленивое зарастала макрофитами, что делало невозможным установку имагоуловителей и дальнейший учет вылета насекомых.

Количественный учёт вылета имаго гетеротопных насекомых проводили имагоуловителями, изготовленными по принципам, описанным

в работе Д. Розенберга с соавт. (1980) [9]. Для сборов был использован модифицированный имагоуловитель погруженного типа оригинальной конструкции [10]. В 2008 г. имагоуловители были установлены на озере Холодное после полного освобождения водоема от льда и сняты после полного прекращения вылета (через 3 недели после отлова последней особи имаго). В 2009 г. имагоуловители были установлены на озёрах Холодное, Садок и Ленивое в те же сроки, сняты в конце мая.

На озере Холодное было установлено 6 имагоуловителей на 2 трансектах (384 пробы имаго), на озере Ленивое – 6 имагоуловителей на 2 трансектах (54 пробы), на озере Садок – 3 имагоуловителя (24 пробы). Периодичность сбора насекомых из имагоуловителей в 2008 г. зависела от интенсивности их вылета: при слабом вылете – 1 раз в неделю, при интенсивном вылете массовых видов – ежедневно. В 2009 г. имагоуловители проверялись 1 раз в неделю. Имаго фиксировали в 70% спирте. Продолжительность вылета вида определялась как сумма интервалов сбора, в которые данный вид был обнаружен в имагоуловителе [11].

Видовую идентификацию имаго гетеротопных насекомых проводили по следующим руководствам: хирономидам [12–16], хаоборидам [17], подёнкам [18], ручейникам [19], сетчатокрылым [20]. Соотношение самцов и самок оценивали в популяциях двух наиболее массовых видов двукрылых: *Endochironomus albipennis* Meigen, 1830 (сем. Chironomidae) и *Chaoborus flavicans* Meigen, 1830 (сем. Chaoboridae). Для оценки корреляции количества самок и самцов на протяжении периода вылета использовали коэффициент Спирмена. Гипотезу об отличии соотношения полов от 1 : 1 проверяли с помощью критерия  $\chi^2$ . Статистическая обработка материала выполнялась в пакете программ Statistica 6.0.

### Результаты и их обсуждение

Вылет гетеротопных насекомых из озера Холодное в 2008 г. начинался в третьей декаде апреля при среднесуточной температуре воздуха +13 °С, температуре воды – 16 °С. Закончился вылет во второй декаде сентября при температуре воздуха + 13 °С, воды – 14 °С. Вылет из озера Холодное в 2009 г. начался в более ранние сроки, чем в 2008 г., – в начале второй декады апреля. Ранний рост среднесуточных температур в 2009 г. обусловил смещение сроков начала вылета гетеротопных насекомых из озера. Такое



явление отмечается довольно часто [2, 21] и во многом определяется вариабельностью жизненного цикла насекомых, их способностью адаптироваться к изменениям среды обитания [22]. Общая продолжительность вылета гетеротопных насекомых из оз. Холодное в 2008 г. составляла 154 дня.

**Фенология вылета сем. Chironomidae.** Сроки вылета гетеротопных насекомых из озера Холодное определялись сроками вылета хирономид. Вылет начинался при температуре 16 °С, данная температура типична для начала вылета видов р. *Chironomus* в средней полосе европейской части России [23]. Первыми в вылете были отмечены виды родов *Chironomus* и *Camptochironomus*, а также *E. albipennis* и *Ablabesmyia phatta* Egger, 1863.

Ранний вылет из водоёмов имаго родов *Chironomus* и *Camptochironomus* отмечался многими исследователями на Волгоградском водохранилище [24] и других водоёмах [1, 2, 23]. Личинки этих родов обычно зимуют на IV стадии [13], поэтому проходят метаморфоз сразу после схода ледового покрова. Иногда отмечался вылет имаго из-под льда [2]. На исследованных нами озёрах вылет комаров-звонцов этих видов через закраины и полыньи ледового покрова не был зарегистрирован: с момента таяния льда на озере до начала вылета имаго проходило около недели.

Личинки *E. albipennis*, напротив, зимуют на различных стадиях развития: обычно во II – IV возрасте [25]. Эта особенность также может служить возможным объяснением ранневесеннего, но более продолжительного вылета имаго данного вида из озера Холодное. В начале зимы в бентосе данного озера массовыми были личинки IV возраста в плотных коконах, которые типичны для зимующих особей *E. albipennis* [26].

Вылет хирономид из озера Холодное характеризовался двумя пиками: в первой декаде мая и во второй декаде июля. Каждый пик продолжался в течение 1 – 2 недель, когда происходил массовый вылет имаго из водоёма. Между периодами наибольшей плотности вылета в течение 56 дней имаго хирономид вылетали из водоёма единично. Следует отметить, что два пика вылета хирономид имеют существенные отличия по видовому составу.

Весной наблюдался массовый вылет перезимовавшего поколения *Camptochironomus tentans* Fabricius, 1805; *Camptochironomus pallidivittatus* Edwards, 1929; *Chironomus curabilis* Beljanina,

Sigareva et Loginova, 1990; *E. albipennis*. Для июльского пика плотности вылета характерно присутствие летней генерации бивольтинных (*C. tentans*; *Ch. curabilis*; *E. albipennis* и др.) и моновольтинных видов (*Schineriella schineri* Strobl, 1880), а также видов с растянутым периодом вылета (*A. phatta*).

Вылет таниподин в 2008 г. начинался на неделю позже, чем хирономин. В вылете представителей этого подсемейства отмечался только один пик плотности, совпадавший по времени со вторым пиком вылета подсемейства Chironominae. Таким образом, первый пик вылета хирономид был образован в основном подсемейства Chironominae, а в формирование второго пика вносили свой вклад виды обоих подсемейств. Имаго подсемейства Orthocladiinae в 2008 г. встречались единично, поэтому надёжно установить закономерности динамики вылета не представлялось возможным.

Наибольшая продолжительность вылета в 2009 г. отмечалась у *E. albipennis*, *A. phatta*, *Sch. schineri*, *C. tentans*, *Ch. curabilis*, *Dicrotendipes lobiger* Kieffer, 1921, *Glyptotendipes (s. str.) pallens* Meigen, 1804. У прочих видов хирономид вылет продолжался не более трех недель (табл. 1).

Весной 2010 г. отмечался массовый ранневесенний вылет ортокладиин (*Cricotopus (Isocladus) sylvestris* Fabricius, 1794, *Psectrocladius sordidellus* Zetterstedt, 1838), в отличие от 2009 г., когда представители данного подсемейства практически отсутствовали.

Массовость вылета хирономид, а также количество генераций и сроки вылета определялись не только условиями текущего года, но и, в большей степени, условиями предыдущего года [1, 3]. Так, в 2007 г. средняя температура в августе – октябре составляла 18.2 °С, тогда как в 2008 г. этот показатель был несколько меньше – 16.6 °С (по данным базы данных сайта: <http://www.gismeteo.ru>). Однако в 2008 г. устойчивые отрицательные температуры установились в начале декабря, в то время как в 2007 г. температура опустилась ниже нуля уже в начале ноября. Средняя суточная температура за ноябрь в 2008 г. составила 4.3 °С. Возможно, большая продолжительность периода положительной температуры, а следовательно, и более позднее время установления ледового покрова на водоёмах привело к смещению сроков вылета имаго некоторых видов хирономид на более ранние. *C. sylvestris* и ранее отмечался в весеннем вылете из левобережных затонов и проток Волги [24].



Таблица 1

## Продолжительность вылета представителей сем. Chironomidae из озера Холодное в 2008 г.

Виды	Вылет, сут.	Виды	Вылет, сут.
Tanypodinae		<i>Glyptotendipes glaucus</i>	42
<i>Ablabesmyia phatta</i>	105	<i>Camptochironomus pallidivittatus</i>	21
<i>Schineriella schineri</i>	77	<i>Einfeldia longipes</i>	21
<i>Ablabesmyia monilis</i>	21	<i>Einfeldia pagana</i>	21
<i>Tanypus punctipennis</i>	21	<i>Polypedilum sordens</i>	14
<i>Guttipeloplia guttipennis</i>	14	<i>Dicrotendipes cf. lobiger</i>	14
<i>Krenopeloplia nigropunctata</i>	14	<i>Parachironomus monochromus</i>	14
<i>Labrundinia longipalpis</i>	7	<i>Chironomus commutatus</i>	7
<i>Procladius freemani</i>	7	<i>Chironomus luridus</i>	7
<i>Procladius choreus</i>	7	<i>Chironomus plumosus</i>	7
<i>Psectrotanypus varius</i>	7	<i>Dicrotendipes cf. tritonus</i>	7
<i>Tanypus stellatus</i>	7	<i>Einfeldia cf. pagana</i>	7
Orthoclaadiinae		<i>Einfeldia cf. longipes</i>	7
<i>Cricotopus sylvestris</i>	28	<i>Glyptotendipes barbipes</i>	7
<i>Psectrocladius sordidellus</i>	21	<i>Parachironomus parilis</i>	7
<i>Cricotopus tibialis</i>	14	<i>Glyptotendipes paripes</i>	7
<i>Cricotopus cumulatus</i>	7	<i>Parachironomus cf. parilis</i>	7
<i>Heterotrissocladius biwiquartus</i>	7	<i>Dicrotendipes tritonus</i>	7
<i>Psectrocladius barbimanus</i>	7	<i>Synendotendipes dispar</i>	7
Chironominae		<i>Polypedilum cf. sordens</i>	7
Chironomini		Tanytarsini	
<i>Endochironomus albipennis</i>	112	<i>Paratanytarsus confusus</i>	14
<i>Camptochironomus tentans</i>	70	<i>Paratanytarsus inopertus</i>	7
<i>Chironomus curabilis</i>	56	<i>Tanytarsus nemorosus</i>	7
<i>Dicrotendipes lobiger</i>	49	<i>Tanytarsus volgensis</i>	7

Вылет таниподин весной 2009 г. начинался в те же сроки, что и в 2008 г. и также был представлен только родом *Ablabesmyia*. Однако следует отметить некоторые различия в соотношении видов. В 2008 г. в вылете в наибольшей степени участвовала *A. phatta*, а имаго *Ablabesmyia monilis* L., 1758 были единичны, а весной 2009 г. наблюдалось противоположное соотношение.

Фенология вылета некоторых массовых видов хирономид. Вылет *C. tentans* в 2008 г. отмечался с третьей декады апреля, пик плотности вылета приходился на первую декаду мая. Вторая генерация данного вида проходила метаморфоз и вылетала из водоёма с начала июля до конца сентября.

По данным других исследователей, вылет этого вида для различных водоёмов также харак-

теризовался двумя генерациями в год. При этом сроки вылета первой генерации отличались в зависимости от типа водоёма: в водохранилищах – с первой половины июня, в мелководных стоячих водоёмах – с начала мая [13]. Вероятно, такие различия были вызваны локальными особенностями динамики температуры воды в водоёмах разной глубины. Сроки вылета *C. tentans* из озера Холодное сопоставимы с данными по весеннему вылету этого вида из других озёр в ареале вида.

Вылет второй генерации *C. tentans* более растянут, чем весенний вылет перезимовавшего поколения, что вполне согласуется с данными других исследователей о том, что вылет данного вида сильно растянут во времени в связи с неравномерным развитием личинок [13]. Однако отмеченный постепенный переход от вылета



одной генерации к вылету следующей в озере Холодное не был отмечен. Весенняя генерация имаго вылетала массово и в относительно короткие сроки, а затем наблюдался достаточно длительный период (около трёх недель), в течение которого вылет *C. tentans* был слабым (метаморфоз проходили единичные особи) или полностью отсутствовал.

Вылет *E. albipennis* в 2008 г. начинался в третьей декаде апреля, а заканчивался во второй декаде сентября. Обнаружено два пика вылета – в первой декаде мая и во второй декаде июля. Во временном интервале между периодами наибольшей численности вылет *E. albipennis* отсутствовал или был единичен. По данным других исследователей, в Рыбинском и Учинском водохранилищах *E. albipennis* также был дицикличен, т.е. имел два пика вылета [13; 26]. В то же время указания на растянутость метаморфоза данного вида [3, 13, 26, 27] подтвердились для пойменных озёр Волгоградского водохранилища лишь частично. Вылет первой генерации *E. albipennis* происходил в течение относительно короткого периода времени, тогда как вторая генерация имела несколько более растянутый по времени период вылета из водоёма. Поэтому именно вторая генерация определяла наибольшую продолжительность вылета среди всех изученных нами гетеротопных насекомых на исследованных озёрах. Весенний вылет данного вида в 2009 г. начинался в те же сроки, однако в 2009 г. вылет достигал пика на неделю раньше (начало мая). Наибольшей плотности вылет *E. albipennis* достигал во время второго пика – в июле, что совпадало по времени с развитием водной растительности, в основном роголистника, который личинки данного вида массово заселяли в летний период.

Вылет *A. phatta* в 2008 г. также был растянут во времени, начинался со второй декады апреля и заканчивался во второй декаде сентября. Четких пиков вылета не было выявлено, но представители вида стабильно встречались на протяжении всего периода исследований. На Рыбинском водохранилище также был зарегистрирован растянутый во времени вылет данного вида, который был обусловлен неравномерным ростом личинок, а также обитанием их на разной глубине [13]. Однако в постоянных стоячих водоёмах в окрестностях Рыбинского водохранилища начало вылета *A. phatta* приходилось на июнь, а в озере Холодное данный вид отмечался в вылете в более ранние сроки. Весенний вылет имаго

*A. phatta* был также обнаружен во временных водоёмах, однако в них метаморфоз этого вида заканчивался уже к середине июня [13].

*Вольтинность вылета хирономид из озера Холодное.* По результатам исследования вылета хирономид подсемейства Chironominae 5 видов – *E. albipennis*, *C. tentans*, *C. pallidivittatus*, *Ch. curabilis*, *Einfeldia longipes* Staeger, 1839 – относятся к бивольтинным видам. В вылете этих видов четко прослеживаются две генерации имаго – весенняя (конец апреля – середина мая) и летняя (с конца июня), что согласуется с данными по другим водоёмам [3, 13, 24].

Вторая генерация может быть относительно короткой (*C. pallidivittatus*, *E. longipes*) или более растянутой во времени (*E. albipennis*, *C. tentans*, *Ch. curabilis*). На Рыбинском водохранилище была обнаружена растянутость вылета второй генерации *C. pallidivittatus* [13], которая в целом не характерна для популяций этого вида в исследованных нами водоёмах. Промежуток времени между генерациями перечисленных выше видов составлял от 35 до 70 сут.

*D. lobiger* в 2008 г. отмечался в вылете во второй половине лета, при этом вылет был относительно растянут во времени (с середины июля по середину сентября). На протяжении этого времени стабильно отмечался слабый вылет имаго, возможно, связанный с неравномерностью развития личинок. В 2009 г. был зарегистрирован массовый весенний вылет этого вида, что позволило предположить у него наличие, как минимум, двух генераций в течение года. По данным некоторых исследователей, в мелких стоячих водоёмах Европы этот вид дицикличен, причем первая генерация приурочена к концу мая – началу июня, а вторая – к концу июля – началу августа [28].

Среди представителей подсемейства Tanypodinae к моновольтинным видам относились *Sch. schineri* и *Guttipelopia guttipennis* Wulp, 1874. Вылет этих видов начинался в начале июля, у *G. guttipennis* заканчивался в конце июля, а у *Sch. schineri* слабый вылет продолжался до середины сентября.

В вылете *A. phatta* чётких генераций проследить не удалось. Со второй декады апреля до начала сентября включительно особи этого вида стабильно встречались в имагоуловителях, не достигая высокой плотности вылета. Таким образом, вылет *A. phatta* можно охарактеризовать как растянутый, без явно выраженных пиков. Вместе с тем в популяции Рыбинского водо-



хранилища существует дицикличность развития данного вида, однако генерации также растянуты по времени [13].

Имаго подсемейства Orthoclaadiinae в 2008 г. отмечались в вылете единично и плотность их летнего вылета невелика, поэтому надежно установить вольтинность не представлялось возможным. Однако массовый вылет *C. sylvestris* и *P. sordidellus* весной 2009 г., а также летний вылет 2008 г. позволил предположить для этих видов наличие как минимум двух поколений в течение года, что хорошо согласуется с данными других авторов [13].

Для остальных видов хирономид затруднительно четко определить вольтинность вылета, так как имаго этих видов встречались в вылете единично весной (*Glyptotendipes* (s. str.) *barbipes* Staeger, 1839, *Procladius freemani* Sublette, 1964 и др.) или летом (*Krenopelopia nigropunctata* Staeger, 1839, *Parachironomus parilis* Walker, 1856 и др.). Имаго *Einfeldia pagana* Meigen, 1838 и *Polypedilum* (*P.*) *sordens* Wulp, 1874 отмечались в вылете в середине июля и в конце августа, но остается неясным, относились эти особи к одной генерации или к разным.

Фенология вылета сем. Chaoboridae из озера Холодное. В 2008 г. начало массового вылета имаго хаоборид (*Ch. flavicans*) приходилось на первую декаду июля, окончание вылета – на вторую декаду сентября (период вылета продолжался 84 дня). В 2009 г. сроки вылета имаго хаоборид отличались от предыдущего года: их массовый метаморфоз происходил с третьей декады апреля.

В вылете *Ch. flavicans* хорошо прослеживалась летняя генерация имаго (с конца июня до середины сентября). Летом было зарегистрировано два пика вылета имаго, разделенных промежутком времени (21 сут.), в течение которого интенсивность этого процесса была несколько ниже. Вероятно, это указывало на наличие одного летнего поколения хаоборид в популяции озера Холодное, вылет которого, тем не менее, был сильно растянут во времени. Единичные имаго хаоборид ещё вылетали из данного водоёма в начале мая 2008 г., что указывало на наличие весенней генерации. Это предположение, кроме того, подтверждалось массовым весенним вылетом хаоборид в мае 2009 г. Таким образом, для популяции *Ch. flavicans* озера Холодное характерны 2 генерации, сильно растянутые по времени вылета.

Фенология вылета имаго отпр. Ephemeroptera, Trichoptera и Neuroptera из озера Холодное. Вылет подёнок в 2008 г. был отмечен с третьей декады

июня до конца августа, общая продолжительность этого процесса составила около 70 суток. В 2009 г. был зарегистрирован единичный весенний вылет только одного вида поденок *Cloeon dipterum* L., 1761.

Имаго ручейников *Leptocerus tineiformis* Curtis, 1834 в 2008 г. стабильно вылетали из водоёма с третьей декады июня до конца августа, в весеннем вылете 2009 г. эта группа гетеротопных насекомых не была обнаружена. Общая продолжительность вылета ручейников в 2008 г. составляла 56 суток.

Единичные особи сетчатокрылых *Sisyra fuscata* Fabricius, 1793 в 2008 г. отмечались в вылете со второй декады июля по вторую декаду августа, продолжительность вылета составляла около 28 суток. При метаморфозе личинки этого вида обычно покидали водную среду и окукливались на берегу, на прибрежной растительности [20], таким образом, встречи имаго этих насекомых в погружённых имагоуловителях, очевидно, случайны.

Популяции поденок *Cl. dipterum*, *Caenis robusta* Eaton, 1884 и ручейников *L. tineiformis* в озере Холодном моновольтинны, т. е. в течение года была представлена только одна генерация (с конца июня до конца августа).

Фенология вылета гетеротопных насекомых из озера Садок и Ленивое. В 2009 г. вылет гетеротопных насекомых из озера Садок начался на неделю раньше, чем из озера Холодное (конец первой декады апреля), при температуре воздуха +12 °С, воды – 10 °С. Такое различие в сроках можно объяснить тем, что озеро Садок мелководное, очевидно, не имело родникового питания, поэтому быстрее прогревалось в весенний период. Сходное влияние температурного режима водоёма на смещение времени начала вылета на более ранние сроки отмечалось ранее многими исследователями [2, 21]. В этот период озеро покидали исключительно имаго хирономид (*E. albipennis*, *P. sordidellus*, *C. sylvestris* и др.). В конце мая вылет имаго с поверхности воды озера Садок ослабевал.

Вылет из озера Ленивое в 2009 г. начинался в начале второй декады апреля, т. е. примерно в те же сроки, что и из озера Садок. Такое совпадение сроков вылета можно объяснить сходством биотопических и температурных характеристик этих озёр. Среди гетеротопных насекомых, вылетающих через поверхность воды озера в весенний период, преобладали хирономиды (*E. albipennis*). К началу июня вылет гетеротопных насекомых ослабевал и был представлен лишь единичными хирономами (преимущественно *E. albipennis*).



Соотношение полов в вылете массовых видов гетеротопных насекомых.

Соотношение полов в вылете *E. albipennis*. В 2008 г. в вылете *E. albipennis* прослеживалось

согласованная динамика вылета самцов и самок ( $r = 0.90, P < 0.001$ ). Однако в первой генерации преобладали самцы, самки в этот период были представлены в вылете единично (табл. 2).

Таблица 2

Соотношение полов в популяциях *E. albipennis* (сем. Chironomidae, Diptera) и *Ch. flavicans* (сем. Chaoboridae, Diptera) в период вылета на озере Холодное

Вид	Год	Генерация		N, экз.		Соотношение полов	$\frac{\chi^2}{P}$
		№	Период вылета	Самцы	Самки		
<i>E. albipennis</i>	2008	1	24.04 – 14.05	43	4	10.75 : 1	$\frac{21.45}{<0.001}$
		2	19.06 – 21.09	259	217	1.19 : 1	$\frac{1.86}{0.17}$
	2009	1	21.04 – 20.05	61	52	1.17 : 1	$\frac{0.36}{0.55}$
<i>Ch. flavicans</i>	2008	1	01.05 – 07.05	12	0	–	–
		2	19.06 – 14.09	130	115	1.13 : 1	$\frac{0.46}{0.50}$
	2009	1	29.04 – 20.05	45	4	11.25 : 1	$\frac{20.91}{<0.001}$

Самцы проходили метаморфоз и вылетали из водоема на неделю раньше, чем самки, т.е. была обнаружена протерандрия. Это явление согласуется с данными большинства исследователей хирономид [29, 30], в качестве возможных причин приводится меньшая скорость развития более массивных самок [21].

Во второй генерации *E. albipennis* протерандрия не наблюдалась – вылет самцов и самок начинался одновременно – с конца июня. Плотность вылета обоих полов достигала наибольших значений одновременно, соотношение полов в этом поколении хирономид примерно соответствовало 1 : 1 (см. табл. 2). Вылет самцов заканчивался на неделю позже, чем вылет самок. Общая продолжительность вылета самцов *E. albipennis* в 2008 г. составляла 105 суток, самок – 84 дня. Соотношение самцов и самок в вылете за 2008 г. составляло 1.37 : 1 ( $\chi^2 = 6.47, P = 0.01$ ).

В 2009 г. соотношение самцов и самок в весеннем вылете *E. albipennis* было близко к 1 : 1 (см. табл. 2), вылет имаго обоих полов начинался одновременно (во второй декаде апреля).

Соотношение полов в вылете *Ch. flavicans*. В весенний период 2008 г. был отмечен вылет единичных самцов хаоборид, затем наблюдался длительный промежуток времени, в течение которого метаморфоза и вылета из водоёма имаго данного вида не происходило. С конца июня вновь начинался вылет второй генерации имаго *Ch. flavicans* обоих полов, причем дисбаланса

в соотношении полов не было отмечено (см. табл. 2).

Количественные показатели вылета хаоборид обоих полов изменялись синхронно и пики плотности вылета имаго соответствовали друг другу ( $r = 0.96, P < 0.001$ ). Вылет самцов и самок *Ch. flavicans* заканчивался также одновременно в середине сентября. Продолжительность вылета имаго обоих полов для данного вида составляла 77 дней. Таким образом, соотношение самцов и самок в вылете хаоборид в течение всего сезона 2008 г. составляло 1.23 : 1 ( $\chi^2 = 1.53, P = 0.23$ ), т.е. примерно соответствовало 1 : 1.

Вылет хаоборид обоих полов начинался в 2009 г. одновременно. Весной 2009 г. среди особей, проходивших метаморфоз, преобладали самцы, тогда как самки встречались единично (см. табл. 2).

Таким образом, соотношение самцов и самок массовых видов гетеротопных насекомых – *E. albipennis* и *Ch. flavicans* – варьировало на протяжении сезона вылета. В целом соотношение самцов и самок за весь сезон соответствовало соотношению 1 : 1. Небольшие отклонения от этого соотношения определялись в основном дисбалансом в количестве самцов и самок первой генерации.

#### Список литературы

1. Соколова Н. Ю., Коренева Т. А. Биологические циклы некоторых массовых тендипедид Учинского водохранилища и сезонная динамика численности



- их личинок // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1959. Т. 64, вып. 2. С. 67–78.
2. *Боруцкий Е. В.* Вылеты Chironomidae (Diptera) континентальных водоемов разных климатических поясов как фактор обеспеченности рыб пищей // Зоол. журн. 1963. Т. 42, № 2. С. 233–247.
  3. *Соколова Н. Ю., Извекова Э. И., Львова А. А., Сахарова М. И.* Экология массовых видов донных беспозвоночных // Бентос Учинского водохранилища. М. : Наука, 1980. Т. 26. С. 39–121.
  4. *Силина А. Е., Чалая О. Н.* Предварительные данные о выходе короткоусых двукрылых болота Клюквенное-1 // Состояние и проблемы экосистем Усманского бора. Воронеж, 1994. Вып. 4. С. 120–129.
  5. *Силина А. Е.* Вынос вещества и энергии из болотной экосистемы при эмергенции насекомых : сукцессионный аспект // Проблемы водной энтомологии России и современных стран : материалы III Всерос. симп. по амфибиот. и водн. насекомым. Воронеж : Изд.-полиграф. центр ВГУ, 2007. С.
  6. *Przhiboro A. A.* Fauna and abundance of non-chironomid dipterans (Insecta: Diptera) in the littoral zone of small lakes in Northwestern Russia // 6th Intern. Congress of Dipterology, 23–28 September 2006, Fukuoka, Japan, 2006. Abstracts volume. P. 200–201.
  7. *Burt E. T., Perry R. J. O., McLachlan A. J.* Feeding and Sexual Dimorphism in Adult Midges (Diptera: Chironomidae) // Holarctic Ecology. 1986. Vol. 9, № 1. P. 27–32.
  8. *Benbow M. E.* Role of larval sexual dimorphism, biased sex ratios, and habitat on the energetics of a tropical chironomid // Environ Entomol. 2008. Vol. 37, № 5. P. 1162–1173.
  9. *Rosenberg D. M., Wiens A. P., Bilyj B.* Sampling emerging Chironomidae (Diptera) with submerged funnel traps in a new northern canadian reservoir, Southern Indian Lake, Manitoba // Can. J. of Fish. and Aq. Sci. 1980. Vol. 37, № 6. P. 927–936.
  10. *Демина И. В., Ермохин М. В., Демин А. Г.* Имагоуловитель для количественного учета вылета гетеротопных насекомых на границе «вода – воздух» в стоячих водоемах // Поволж. эколог. журн. 2009. № 1. С. 65–68.
  11. *Bouchard R. W. Jr., Ferrington L. C. Jr.* Duration of emergence among Chironomidae in an insular tropical rainforest stream // Bul. of the N. Amer. Benthol. Soc. 2003. Vol. 20(1). P. 315–316.
  12. *Родова Р. А.* Определитель самок комаров-звонцов трибы Chironomini (Diptera, Chironomini). Л. : Наука, Ленингр. отд-ние, 1978. 144 с.
  13. *Шилова А. И.* Хиროномиды Рыбинского водохранилища. Л. : Наука, Ленингр. отд-ние, 1976. 151 с.
  14. *Pinder L. C. V.* A key to the adult males of the british Chironomidae (Diptera), the non-biting midges // Freshwater Biol. Assoc. Sci. Publ. 1978. № 37. 114 p.
  15. *Strenzke K.* Revision der Gattung Chironomus Meig. 1. Die imagines von 15 norddeutschen Arten und Unterarten // Arch. Hydrobiol. 1959. № 56. P. 1–42.
  16. *Макарченко Е. А.* Сем. Chironomidae // Определитель насекомых Дальнего Востока России : в 6 т. Т. VI. Двукрылые и блохи. Ч. 4 / под общ. ред. П. А. Лера. Владивосток : Дальнаука, 2001. 641 с.
  17. *Штакельберг А. А.* Сем. Chaoboridae // Определитель насекомых европейской части СССР : в 5 т. Т. 5. Двукрылые, блохи. Ч. I / под общ. ред. Г. Я. Бей-Биенко. Л. : Наука. Ленингр. отд-ние, 1969. 809 с.
  18. Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий / под общ. ред. С. Я. Цалолыхина : в 5 т. Т. 3. Паукообразные. Низшие насекомые. СПб. : Наука, 1997. 448 с.
  19. Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий / под общ. ред. С. Я. Цалолыхина : в 5 т. Т. 5. Высшие насекомые. СПб. : Наука, 2001. 836 с.
  20. *Дорохова Г. И.* Надотряд Neuropteroidea – Сетчатокрылые. // Определитель насекомых европейской части СССР. Т. 4. Большекрылые, верблюдки, сетчатокрылые, скорпионовые мухи и ручейники. Ч. 6. М. ; Л. : Наука, 1987. С. 7–97.
  21. *Boerger H.* Species composition, abundance and emergence phenology of midges (Diptera: Chironomidae) in a brown-water stream of West-Central Alberta, Canada // Hydrobiologia. 1981. Vol. 80. P. 7–30.
  22. *Бей-Биенко Г. Я.* Общая энтомология : учебник для университетов и сельхозвузов. М. : Высш. школа, 1980. 416 с.
  23. Мотыль *Chironomus plumosus* L. (Diptera, Chironomidae). Систематика, морфология, экология, продукция / под ред. Н. Ю. Соколовой. М. : Наука, 1983. 312 с.
  24. *Мисейко Г. Н.* Число генераций у некоторых видов хиროномид Волги близ Саратова // Влияние хозяйственной деятельности человека на животный мир Саратовского Поволжья. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1969. С. 45–48.
  25. *Калугина Н. С.* Места обитания личинок и смена поколений у семи видов Glyptotendipes Kieff. и Endochironomus Kieff. (Diptera, Chironomidae) из Учинского водохранилища // Учинское и Можайское водохранилища. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1963. С. 173–212.
  26. *Калугина Н. С.* К биологии некоторых хиროномид Учинского водохранилища (род Endochironomus Kieff., род Glyptotendipes Kieff. и др.) // Тр. VI совещ. по проблемам биологии внутренних вод. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1959. С. 283–287.
  27. *Mundie J. H.* The ecology of Chironomidae in storage reservoirs // Transactions of the Royal Entomol. Soc. of London. 1957. Vol. 109. P. 149–232.
  28. *Macan T. T.* Survey of a moorland fishpond // J. Anim. Ecol. 1949. Vol. 18. P. 160–188.
  29. *Learner M. A., Potter D. W.* The Seasonal Periodicity of Emergence of Insects from two Ponds in Hertfordshire, England, with Special Reference to the Chironomidae (Diptera: Nematocera) // Hydrobiologia. 1974. Vol. 44, № 4. P. 495–510.
  30. *Ringel F.* Chironomiden Emergenz 1970 in Breitenbach and Rohrwiesenbach // Arch. Hydrobiol. 1974. Suppl. 45. S. 212–304.

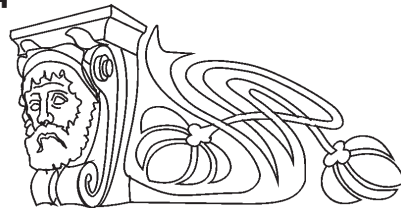


УДК 556.55+627.81

## ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛИЗОВАННЫХ ПЛАСТОВЫХ ВОД НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА

Д. Э. Самтанова, Л. Х. Сангаджиева

Калмыцкий государственный университет, Элиста  
E-mail: lobsan@bk.ru



Представлены результаты физико-химических свойств, анализа гидрохимического состава, анализа на содержание тяжелых металлов, гидрогеохимических показателей минерализованных пластовых вод, расположенных на территории юго-восточной части Республики Калмыкии (РК). Отмечено, что химический состав минерализованных пластовых вод резко изменяет состояние экосистем, приводит к деградации биоценозов и почвенного покрова.

**Ключевые слова:** минерализованные пластовые воды, засоление почв, техногенез, микроэлементный состав, тяжелые металлы.

### Influence of the Mineralized Stratal Waters on Contamination of Soil Cover

D. E. Samtanova, L. H. Sangadzhieva

The results of physical and chemical properties, analysis of hydrochemical composition, analysis on maintenance of heavy metals, hydro-geochemical indicators of the mineralized stratal waters located on territory of south-east part of Republic of Kalmykia are presented. It is marked that chemical composition of the mineralized stratal waters changes the state of ecosystems sharply, results in degradation of biocenosis and soil cover.

**Key words:** mineralized stratal waters, soil salinization, technogenesis, microelement composition, heavy metals.

На сегодня нет необходимости убеждать кого-либо в том, какое огромное значение для всего человечества играют вопросы, связанные с проблемой охраны окружающей среды. Эта проблема сложна и многопланова. Она включает не только чисто научные аспекты, но и экономические, социальные, политические, правовые, эстетические [1].

При современных способах разработки нефтяных месторождений в процессе добычи, подготовки, транспортировки и использования теряется около 1–16% нефти [2]. Территории нефтеразработок составляют сотни квадратных километров, причем значительная часть их еще не изъята из сельскохозяйственного пользования. Загрязнение природной среды при нефтедобыче и транспортировке нефтепродуктов наносит огромный вред природе и экономике: деградируют сельскохозяйственные угодья, падает урожай-

ность сельскохозяйственных культур, уменьшается продуктивность лесов и лугов, изымаются из хозяйственного оборота значительные площади плодородных земель, загрязняются грунтовые и подземные воды. В то же время для естественного восстановления загрязненных земель требуются сотни, а порой и тысячи лет [3, 4].

Острота проблемы защиты почв и растений от вредного воздействия нефтедобычи и нефтеперерабатывающего производства состоит в том, что нефтедобычей заняты большие территории: нефтегазоносные и перспективные бассейны, по данным Т. И. Артемьевой, занимают более трети суши земного шара [5].

Пластовые воды, добываемые с нефтью и образующие с ней дисперсную систему, содержат, как правило, значительное количество растворимых минеральных солей. Своеобразный солевой и микроэлементный состав пластовых минерализованных вод резко изменяет состояние экосистем, приводит к деградации биоценозов, причем скорость трансформации почвенного комплекса много выше, чем при разливах нефти, а самоочищение идет медленнее [6].

Заметная потеря продуктивности загрязненных земель и быстрая деградация ландшафта определяют необходимость изучения процессов, которые обуславливают их трансформацию.

Целью исследования являлось изучение химического состава и наличия тяжелых металлов в исследуемых пробах пластовых вод и их влияние на почвенный покров.

Объектами исследования являлись пробы вод различных месторождений (Восточно-Камышанское, Комсомольское, Курганное, Калининское и Екатерининское), расположенных на юго-востоке Республики Калмыкия.

Восточно-Камышанское месторождение приурочено к Каспийско-Камышанской структурной ступени, которая осложняет южный склон вала Карпинского. Месторождение разрабатывается с 1972 г. и представляет собой антиклиналь, вытянутую в юго-восточном направлении.





Курганное месторождение приурочено к брахиантиклинали субширотного простирания, осложненной с юга и востока сбросами. Месторождение эксплуатируется с 1972 г.

Калининское месторождение в тектоническом отношении приурочено к одноименному поднятию. Разрабатывается месторождение с 1989 г.

Екатерининское и Комсомольское месторождения в тектоническом отношении входят состав антиклинальной зоны, осложняющей склон вала Карпинского. Эксплуатируются месторождения с 1976 г.

На территории всех нефтяных месторождений юго-востока Республики Калмыкия имеются значительные по площади участки земель, нарушенные при разливе высокоминерализованных вод. Чаще всего загрязнение почвенно-растительного покрова высокоминерализованными водами происходит в результате разлива подтоварной воды, а также воды, используемой в системе поддержания пластового давления. Большинство аварий происходит из-за коррозии на нефтепроводах, пластовая вода обладает агрессивными химическими свойствами, суще-

ственно увеличивающими коррозионный износ.

Засоление почв – процесс накопления в почвах солей (чаще хлоридов и сульфатов натрия, калия и магния, карбонатов), приводящий к образованию солонцеватых и солончаковых почв. Засоление обуславливает резкое изменение свойств почв и вызывает обеднение или перерождение растительного покрова. Повышение концентрации солей в почве в конечном итоге делает невозможным рост растений. Почвенные коллоиды, насыщенные натрием, подвергаются пептизации, почвенные агрегаты распадаются, и физические свойства почвы меняются. Наиболее очевидны изменения плотности, агрегатного и механического состава почв.

На всех этапах необходимо проводить контроль состава среды с помощью лабораторных анализов с установлением точных концентраций основных компонентов. В настоящее время стандартным является шестикомпонентный анализ, который представлен в табл. 1. Карбонат-ион ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) во всех пробах воды отсутствует. Также были определены физические свойства и гидрогеохимические показатели исследуемых проб пластовой воды (табл. 2).

Таблица 1

Гидрохимический состав проб вод месторождений

Месторождение	Плотность, г/см <sup>3</sup>	Ион					
		Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup> +K <sup>+</sup>
Комсомольское	1,072	59556	317,29	9,48	8200	2340	25926,6
		1680	5,2	0,2	410	195	1080,4
Курганное	1,0773	117150	488,14	36,12	11000	2280	61650
		3300	8	0,75	550	190	2568,8
Калининское	1,0904	74445	378,31	90,64	12400	6960	21794,16
		2100	6,2	1,89	620	580	908,09
Восточно-Камышанское	1,0788	63190	256,28	59,05	7400	1680	30610,32
		1780	4,2	1,23	370	140	1275,43
Екатерининское	1,0701	51475	610,18	9,6	7500	1200	23664,8
		1450	10	0,2	37,5	100	985,2

Таблица 2

Физические и гидрохимические показатели исследуемых проб вод месторождений

Месторождение	pH	Минерализация, мг/л	$\frac{\text{Cl}}{\text{SO}_4}$	$\frac{\text{Na}}{\text{Cl}}$	$\frac{\text{Na}}{\text{Ca}}$	$\frac{\text{Cl-Na}}{\text{Mg}}$
Комсомольское	5	3370,8	0,0001	0,64	1,32	3,07
Курганное	5	6617,5	0,0003	0,78	2,34	3,85
Калининское	5	4216,18	0,001	0,43	0,07	2,06
Восточно-Камышанское	5	3570,8	0,0009	0,72	1,72	3,6
Екатерининское	5	2920,4	0,0002	0,68	3,16	4,65



Пластовые воды исследуемых месторождений юго-восточной части РК относятся к хлоридно-натриевому типу (с минерализацией 3,3–6,7 г/л). В катионном составе этих вод доминирующее положение занимает  $\text{Na}^+$ , составляя

до 30,8 г/л в пробе воды Курганного месторождения (см. табл. 1). Среди анионов преобладает  $\text{Cl}^-$ , концентрации которого достигают 117 г/л также в пробе воды Курганного месторождения (рис. 1).

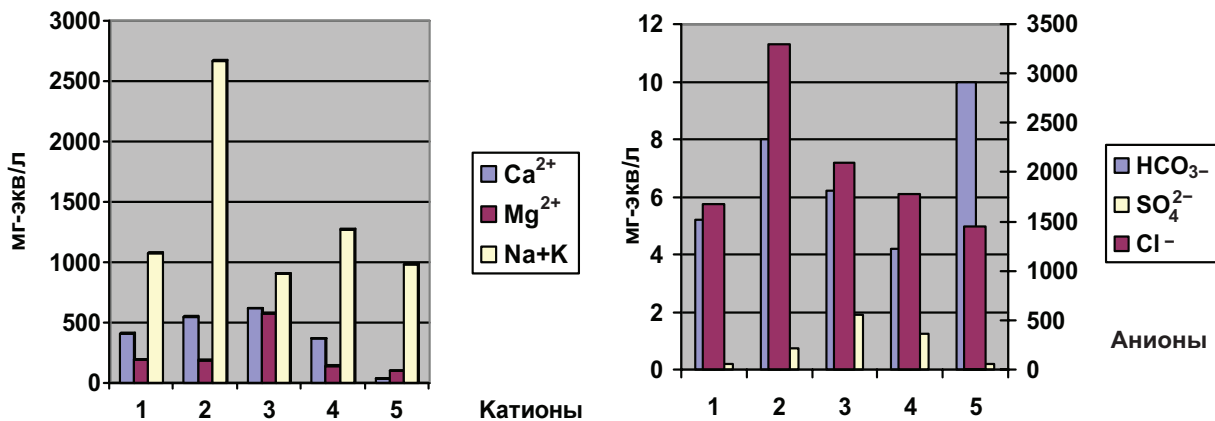


Рис.1. Распределение катионов и анионов (мг-экв/л) в исследуемых пробах воды (1 – Комсомольское, 2 – Курганное, 3 – Калининское, 4 – Восточно-Камышанское, 5 – Екатерининское месторождения)

Доминирование в химическом составе пластовых вод ионов  $\text{Cl}^-$  и  $\text{Na}^+$  делает эти химические элементы важными индикаторами техногенной нагрузки на экосистемы [6]. В процессе добычи нефти в среду с пластовыми и промывными водами попадают соли натрия (особенно  $\text{NaCl}$ ). Содержание ионов натрия достигает 25–35% от суммы поглощенных катионов, в результате чего возникает техногенное солонцевание почв [7].

По результатам исследований мы видим, что превышение таких коэффициентов, как  $r\text{Na}/\text{Ca}$ ,  $r\text{Cl}-\text{Na}/\text{Mg}$  наблюдается в пробе воды Екатерининского месторождения (рис. 2). Превышение такого гидрогеохимического коэффициента, как  $r\text{Na}/\text{Cl}$  наблюдается в пробе воды Калининского месторождения (рис. 3). А превышение коэффициента  $r\text{SO}_4/\text{Cl}$  – в пробе воды Курганного месторождения (рис. 4).

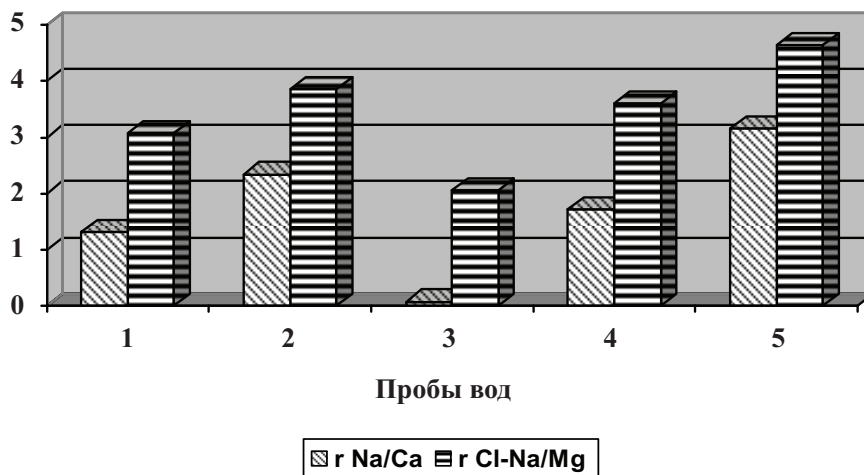


Рис. 2. Распределение гидрогеохимических коэффициентов-  $r\text{Na}/\text{Ca}$ ,  $r\text{Cl}-\text{Na}/\text{Mg}$  в исследуемых пробах воды (1 – Комсомольское, 2 – Курганное, 3 – Калининское, 4 – Восточно-Камышанское, 5 – Екатерининское месторождения)

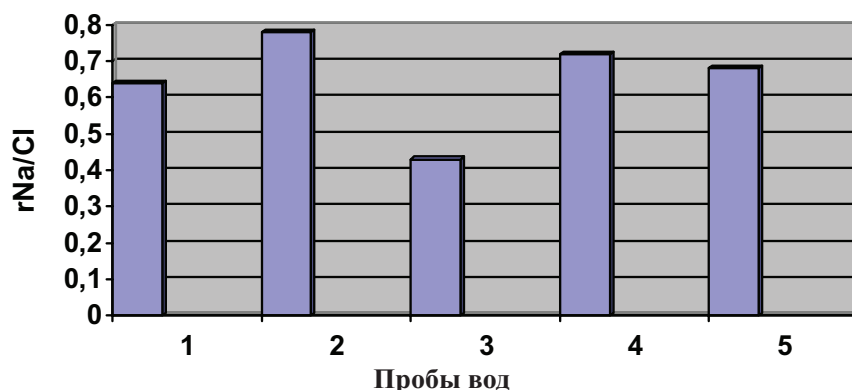


Рис. 3. Распределение гидрогеохимического коэффициента –  $r_{Na/Cl}$  в исследуемых пробах воды (1 – Комсомольское, 2 – Курганное, 3 – Калининское, 4 – Восточно-Камышанское, 5 – Екатерининское месторождения)

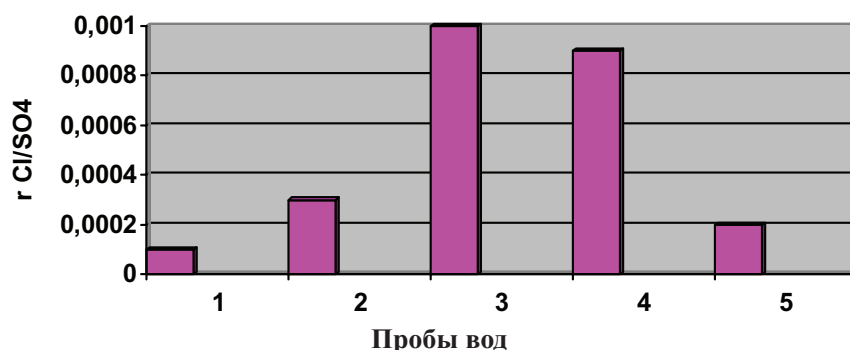


Рис. 4. Распределение гидрогеохимического коэффициента –  $r_{SO_4/Cl}$  в исследуемых пробах воды (1 – Комсомольское, 2 – Курганное, 3 – Калининское, 4 – Восточно-Камышанское, 5 – Екатерининское месторождения)

В почву вместе с нефтью и пластовыми водами попадают содержащиеся в них тяжелые металлы.

В последнее время в связи с проблемой загрязнения окружающей природной среды продуктами техногенеза объектом пристального внимания экологического мониторинга стали тяжелые металлы [8].

Тяжелые металлы (ТМ) относятся к числу приоритетных загрязняющих веществ. Специфическая способность почвы поглощать поступившие из антропогенных источников металлы

и распределять их между свойственными почвам компонентами имеет решающее значение в формировании экологической обстановки на планете [9].

По результатам анализа мы видим, что наибольшее содержание Cd содержится в пробе воды Екатерининского месторождения (табл. 3). Такие ионы, как  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$  преобладают в пробе воды Комсомольского месторождения. А в пробе воды Восточно-Камышанского месторождения наблюдается наибольшее содержание иона  $Cu^{2+}$  (рис. 5).

Таблица 3

Содержание тяжелых металлов в исследуемых пробах воды

Месторождение	Содержание тяжелых металлов, мг/л					
	Cd	$Pb^{2+}$	$Cu^{2+}$	$Zn^{2+}$	$Mn^{2+}$	$Cr^{3+}$
Комсомольское	0,094	0,480	0,204	0,492	0,996	1,080
Екатерининское	0,123	0,414	0,168	0,198	0,522	0,984
Курганное	0,042	0,276	0,128	0,060	0,244	0,800
Калининское	0,048	0,240	0,120	0,120	0,220	0,608
Восточно-Камышанское	0,050	0,275	0,385	0,395	0,255	1,000
Среднее значение	0,071	0,337	0,201	0,253	0,447	0,894

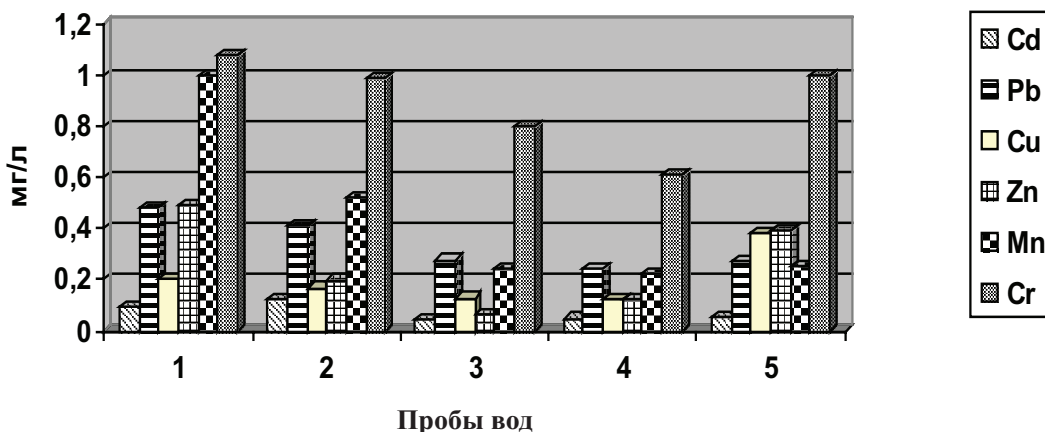


Рис. 5. Содержание тяжелых металлов в исследуемых пробах воды (1 – Комсомольское, 2 – Курганное, 3 – Калининское, 4 – Восточно-Камышанское, 5 – Екатерининское месторождения)

Наибольшее содержание таких показателей, как Pb/Ca, Zn/Ca, Mn/Ca наблюдается в пробе воды Комсомольского месторождения. В пробе воды Восточно-Камышанского месторождения превышен показатель Cr/Ca, а в пробе воды Екатерининского месторождения превышено отношение Cd/Ca (табл. 4).

Трансформация соединений тяжелых металлов, поступающих в почву, включает в себя следующие процессы: растворение, адсорбция катионов тяжелых металлов твердой фазой почв,

образование новой твердой фазы. Основным процессом, контролирующим содержание водорастворимых форм тяжелых металлов в почвах, подверженных техногенному загрязнению, является адсорбционно-десорбционное равновесие.

Концентрация тяжелых металлов в почвенном растворе – наиболее важная экологическая характеристика почвы, поскольку определяет миграцию тяжелых металлов по профилю и поглощение их растениями.

Таблица 4

Относительное распределение тяжелых металлов к иону кальция

Месторождение	Cd/Ca	Pb/Ca	Cu/Ca	Zn/Ca	Mn/Ca	Cr/Ca
Комсомольское	0,011	0,059	0,025	0,06	0,12	0,13
Екатерининское	0,016	0,055	0,022	0,03	0,07	0,13
Курганное	0,004	0,025	0,012	0,005	0,022	0,073
Калининское	0,004	0,019	0,01	0,01	0,018	0,05
Восточно-Камышанское	0,007	0,037	0,052	0,053	0,034	0,14

Особенности состава пластовых вод позволяют характеризовать их как непосредственные загрязнители. Отмеченные высокие концентрации некоторых ионов, высокие значения минерализации определяют солевое загрязнение в ходе разлива этих пластовых вод. В условиях природно-климатических изменений Прикаспия, связанных с повышением температуры воздуха, общего количества осадков, развитие процесса засоления неизбежно. Поэтому на данный момент необходимо проводить постоянный экологический мониторинг и разработать подход для решения проблемы засоления почв, происходящего за счет разлива пластовых вод.

Таким образом, по результатам гидрохимического состава во всех исследуемых пробах пластовых вод с юго-восточной части Прикаспия отмечаем преобладание таких ионов, как ионы хлора, кальция, натрия и калия. Наибольшее содержание этих ионов отмечается в пробе пластовой воды Курганного месторождения. Все исследуемые пробы воды были отнесены к типу хлоридно-кальциево-натриевых.

По определению содержания тяжелых металлов в исследуемых пробах воды мы видим, что содержание ионов Cd колеблется в пределах 0,042–0,123 мг/л, среднее значение – 0,071 мг/л. Наибольшее содержание ионов Cd в



пробе воды Екатерининского месторождения. Содержание ионов  $Pb^{2+}$  колеблется в пределах 0,240–0,480 мг/л, среднее значение – 0,337 мг/л. Содержание ионов  $Zn^{2+}$  колеблется в пределах 0,06–0,492 мг/л, среднее значение – 0,253 мг/л. Содержание ионов  $Mn^{2+}$  колеблется в пределах 0,220–0,996 мг/л, среднее значение – 0,447 мг/л. Содержание ионов  $Cr^{3+}$  колеблется в пределах 0,608–1,080 мг/л, среднее значение – 0,894 мг/л. Ионы  $Pb^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$  преобладают в пробе воды Комсомольского месторождения. А содержание ионов  $Cu^{2+}$  колеблется в пределах от 0,120 до 0,385 мг/л, среднее значение – 0,201 мг/л. И наибольшее содержание ионов  $Cu^{2+}$  отмечается в пробе воды Восточно-Камышанского месторождения.

### Список литературы

1. Богдановский Г. А. Химическая экология : учеб. пособие. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1994. 237 с.
2. Большаков В. Н., Горчаковский П. П., Добринский Л. Н., Магомедова М. А., Семериков Л. Ф. Биогeoценoлогические исследования на Ямале // Проблемы антропогенной динамики биогeoценoзов. М. : Наука, 1990. С. 72.
3. Андерсон Р. К., Мукатонов А. Х., Бойко Т. Ф. Экологические последствия загрязнения почв нефтью // Экология. 1980. № 2. С. 256–263.
4. Измайлов Н. М., Пиковский Ю. И. Рекультивация земель, загрязненных при добыче и транспортировке нефти и нефтепродуктов // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем. М. : Наука, 1988. С. 220–230.
5. Артемьева Т. И., Жеребцов А. К., Борисович Т. М. Влияние загрязнений почвы нефтью и промышленными сточными водами на комплекс почвенных животных // Восстановление нефтезагрязненных почвенных экосистем : сб. науч. тр. М. : Наука, 1988. С. 82–98.
6. Гилязов М. Ю., Гайсин И. А., Гайнутдинов М. З. Охрана почв в районах нефтедобычи Татар. АССР // Защита растительности и охрана природы в Татар. АССР. Казань : Татар. кн. изд-во, 1989. С. 28.
7. Кузнецов А. Е. Научные основы экибиотехнологии : учеб. пособие для вузов. М. : Мир, 2006. 504 с.
8. Конторович А. Э., Нестеров И. И., Салманов Ф. К. и др. Геология нефти и газа Западной Сибири. М. : Недра, 1975. С. 258.
9. Агеев В. Н., Вальков В. Ф., Чешев А. С., Цвильев Е. М. Экологические аспекты плодородия почв Ростовской области. Ростов н/Д : Изд-во СКВШ, 1996. 167 с.

УДК 579.64

## ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ БИОРЕМЕДИАЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЗЕМЕЛЬ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ГЕРБИЦИДОМ «ГЕЗАГАРД»

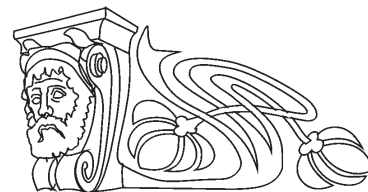
В. В. Олискевич<sup>1</sup>, Н. М. Талаловская<sup>1</sup>, С. Э. Третьякова<sup>1</sup>,  
Е. А. Барышникова<sup>1</sup>, О. Ю. Ксенофонтова<sup>2</sup>, В. А. Гребенщикова<sup>1</sup>,  
И. Ю. Андрухина<sup>1</sup>, Е. В. Басова<sup>1</sup>, М. И. Правдивцева<sup>1</sup>,  
Ю. А. Живайкина<sup>1</sup>, Е. В. Иванова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт технологий органической и неорганической химии и биотехнологий (НИИТОНХиБТ), Саратов

<sup>2</sup>Саратовский государственный университет  
E-mail: tretse1@mail.ru ksenofontova64@mail.ru

Проведена оптимизация технологий восстановления земель, загрязненных пестицидами, для черноземных почв. Дана оценка эффективности ремедиации почвы при использовании различных технологий. Изучена биологическая активность почвы в условиях загрязнения гербицидом «Гезагард» и определена скорость деградации пестицида при использовании следующих технологических приемов: стимулирование автохтонной микрофлоры агротехническими приемами (рыхление, полив, внесение углеводно-минеральной добавки) и внесение капсулированного и некапсулированного микроорганизма – деструктора пестицида *Pseudomonas putida* П2.

**Ключевые слова:** технологии биоремедиации, пестицид «Гезагард», прометрин, микроорганизмы деструкторы, рекуль-



тивация земель, загрязнение пестицидами, деструктор *Pseudomonas putida*.

### Optimization Technology Bioremediation Agricultural Land of Contaminated of Herbicide «Gezagard»

V. V. Olishevich, N. M. Talalovskaya, S. E. Tretyakova,  
E. A. Baryshnikova, O. U. Ksenofontova,  
V. A. Grebenshchikova, I. Y. Andryuhina, E. V. Basova,  
M. I. Pravdivzheva, U. A. Zhivaikina, E. V. Ivanova

The optimization technology restoring land contaminated by pesticides, for black soil. Assessed the effectiveness of soil remediation



using different technologies. Studied the biological activity of the soil contamination in the herbicide «Gezagard» and determined the rate of degradation of the pesticide with the following processing methods: stimulation of autochthonous microflora cultural practices (tillage, irrigation, application of carbohydrate-mineral supplements) and the introduction of encapsulated and non-encapsulated microorganism – destructor pesticide *Pseudomonas putida* P2.

**Key words:** bioremediation technology, the pesticide «Gezagard», prometrin, microorganisms destructors, *Pseudomonas putida*, land reclamation, pollution pesticides.

В связи с интенсивным использованием химических средств защиты растений на сельскохозяйственных полях, механической обработкой почвы и низким поступлением в почву органических остатков агроценозы характеризуются низкой биологической активностью, снижением плодородия и слабой самоочищающей способностью [1]. В результате большинство земель исключаются из сельскохозяйственного оборота вследствие накопления в них токсических поллютантов [2, 3]. Известно, что плодородие и самоочищение почв напрямую зависит от микробиологических процессов, однако в результате высокой интоксикации почвы автохтонная микрофлора зачастую не в состоянии справиться с загрязнением [4].

В настоящее время успешным решением проблемы восстановления плодородия являются разработка, освоение и оптимизация технологий ремедиации земель. Однако почвы, располагающиеся в различных климатических условиях, отличаются по физическому, химическому и микробиологическому составу. В результате эффективность разработанных методов рекультивации может резко отличаться для различных регионов и типов почв.

Цель данного исследования – оптимизация технологий ремедиации почв типа «чернозем южный» Нижнего Поволжья, загрязненной гербицидами.

В качестве модельного загрязнителя почвы был выбран гербицид сим-триазинового ряда «Гезагард» (производство «Сингента Кроп Протекшн АГ», Франция) с действующим веществом «Прометрин». Данный пестицид широко используется в растениеводстве на территории России и обладает широким спектром действия против однолетних двудольных и злаковых сорняков на посевах картофеля, капусты, злаковых и масличных культур [5]. Для получения высокого загрязнения почвы вносили 0,1 мл гезагарда на 1 кг почвы, что соответствовало 50 мг/кг действующего вещества прометрина (100 ПДК/кг).

В ходе эксперимента предстояло изучить биологическую активность почвы в условиях загрязнения гербицидом «Гезагард» и определить скорость деградации пестицида при использовании следующих технологических приемов:

1) стимулирование автохтонной микрофлоры агротехническими приемами (рыхление, полив, внесение углеводно-минеральной добавки);

2) внесение капсулированного и некапсулированного микроорганизма – деструктора пестицида *Pseudomonas putida* П2 [6].

Работа выполнена на базе ООО «Научно-исследовательского института технологий органической и неорганической химии и биотехнологий (НИИТОНХиБТ) г. Саратова.

### Материалы и методы исследований

#### *Подготовка земельного участка к испытаниям*

Для разработки технологий ремедиации в полевых условиях был выбран земельный участок, содержащий почву типа «чернозем южный» (паспорт почвы составлен на базе аккредитованной лаборатории в ФБГУ Государственная станция агрохимической службы «Саратовская»). Перед полевыми испытаниями почва подвергалась механической обработке (фрезерование, боронование) и изучению физических и микробиологических характеристик. Санитарно-микробиологический анализ почвы проводили на базе аккредитованной лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области». Изучение численности и идентификацию микроорганизмов почвы проводили на кафедре микробиологии и физиологии растений биологического факультета СГУ.

Для оценки эффективности ремедиации почвы при использовании различных технологий экспериментальный участок земли был поделен на четыре площадки (табл. 1).

#### *Технологический прием – стимулирование автохтонной микрофлоры*

Для стимулирования естественной микрофлоры использовали следующие агротехнические приемы:

- рыхление почвы;
- полив и поддержание 30–40% влажности почвы от полной ее влагоемкости;
- внесение минерально-углеводной добавки, г/кг: аммиачная селитра – 0,3; нитроаммофоска – 0,3; сахароза – 1.

Влажность и влагоемкость почвы определяли гравиметрическим методом [7] и влагомерами модели TR-46908a.



Таблица 1

**Параметры и назначение земельных участков для ремедиации почвы при использовании различных технологий**

Номер участка	Параметры (длина/ ширина), м	Назначение земельных участков
1	10 × 2	Предназначен для внесения гезагарда и контроля его концентрации в почве, под воздействием абиогенных факторов окружающей среды и аборигенной микрофлоры. Служит «контролем» по отношению к участкам № 2, 3, 4 (загрязненный контроль)
2	10 × 2	Предназначен для внесения гезагарда и контроля его концентрации в почве при проведении агроприемов (рыхление, полив, внесение углеводно-минеральной добавки)
3	10 × 2	Предназначен для внесения гезагарда и контроля его концентрации в почве при проведении агроприемов и внесении некапсулированного деструктора прометрина <i>Pseudomonas putida П2</i>
4	10 × 2	Предназначен для внесения «Гезагарда» и контроля его концентрации в почве при проведении агроприемов и внесении капсулированного деструктора прометрина <i>Pseudomonas putida П2</i>

Разрабатываемые агроприемы (полив, аэрация и внесение удобрений) проводили в слое почвы глубиной не более 0,12 м. В связи с этим для полива было рассчитано определенное количество воды (19,5 л на 1 м<sup>2</sup>), которое не проникало в слой почвы глубже 0,1 м для исключения смыва пе-

стицида в нижние слои грунта. Для поддержания влажности почвы 30–40% полив осуществляли с помощью специального откалиброванного навесного оборудования (рис. 1). Для исключения попадания излишней влаги с осадками экспериментальные участки укрывали тентами (рис. 2).



Рис. 1. Дозированный полив почвы с помощью навесного оборудования



Рис. 2. Укрытие участков тентами

*Технологический прием – внесение некапсулированного деструктора прометрина *Pseudomonas putida П2**

Наработку необходимого количества биопрепарата-деструктора проводили в ферментере при температуре 25–28 °С в течение 3 суток. Внесение полученной взвеси, содержащей  $1,08 \times 10^9$  кл/мл штамма *Pseudomonas putida П2*, осуществляли путем распыления на поверхность почвы с помощью навесного оборудования, установленного на минитракторе (рис. 3 а, б).

*Технологический прием – внесение капсулированного деструктора*

Для приготовления капсулированного деструктора использовали микрокапсулы марки МКП (ТУ 2292–003–13525135–2009) (рис. 4 а, б), предоставленные разработчиком, и штамм – деструктор прометрина *Pseudomonas putida П2*.

Инокуляцию капсул деструктором проводили в соответствии с рекомендациями производителя, в которых требовалось проводить смешивание капсул и культуры бактерий в отношении 2,5 : 97,5% по массе и культивирование с бактериями в течение 2,5 ч. Конечная концентрация бактериальных клеток в суспензии с капсулами соответствовала  $\approx 1-1,2 \times 10^8$  кл/мл. Для того чтобы

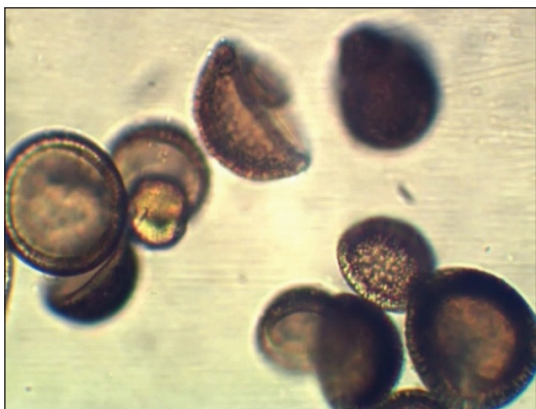


а



б

Рис. 3. Навесной распылитель биопрепарата; а – установка на минитракторе; б – распыление биопрепарата



а



б

Рис. 4. Микрокапсулы (а) и адгезия клеток *Pseudomonas putida* на поверхности капсул при совместном культивировании в течение 2,5 ч (б) (ув. 1 : 15000)

исключить влияние сорбционных свойств капсул на общую динамику уменьшения концентрации ДВ прометрина в почве, была установлена их относительная сорбционная емкость (11,7 мг ДВ прометрина/1 г капсул). Внесение капсулированного микроорганизма-деструктора осуществляли путем распыления на поверхность почвы с помощью ранцевого опрыскивателя (рис. 5).

Определение микробиологического состава почвы и идентификацию выделенных культур проводили по стандартным методикам [8–11].

Содержание пестицида в почве определяли хромато-масс-спектрометрическим методом путем определения концентрации прометрина в режиме селективного детектирования характеристических ионов-аналитов в соответствии со стандартной аттестованной методикой выполнения измерений [12]. Условия хроматографической программы и режима масс-спектрометра



Рис. 5. Опрыскиватель «ранцевый» для внесения капсулированного штамма-деструктора





подбирали экспериментально для прометрина, в соответствии с данными библиотеки спектров MS Search v.2.0.

Отбор образцов почв с экспериментальных участков проводили согласно нормативным документам [13].

### Результаты и их обсуждение

Результат разрабатываемых технологических приемов оценивали по качественному и количественному составу почвенных микроорганизмов и химическим показателям остаточной концентрации пестицида.

#### Оценка микробиологической активности почвы

Бактериологические исследования были направлены на изучение численности и определение доминирующих видов среди гетеротрофных бактерий (аммонификаторов), актиномицетов, плесневых грибов, азотфиксирующих и целлюлозоразрушающих бактерий до проведения испытаний и после. Интерес к этим группам автохтонной микрофлоры был вызван их участием в процессах минерализации и гумусообразования [14–17].

Для оценки эффективности разрабатываемых технологических приемов проведен сравнительный анализ микробиологического состава почвы до проведения эксперимента на 1-е сутки и после – на 30-е сутки.

Учет численности микроорганизмов до применения технологий ремедиации проводили в средней пробе почвы со всех экспериментальных участков.

Анализ полученных результатов показал, что среди аммонификаторов 54% бактерий относились к роду *Bacillus*, среди которых доминировали виды *B. cereus*, *B. megatherium* и *B. mesentericus*. Остальные были представлены неспорообразующими бактериями родов *Artrobacter*, *Micrococcus* и *Agromyces*. Из актиномицетов наиболее часто выделялись представители групп *Albus* и *Griseus*. Среди микроскопических грибов доминировали виды родов *Mucor*, *Penicillium* и *Fusarium*. Из азотфиксирующих микроорганизмов чаще всего идентифицировались *Azomonas agilis* и *Azotobacter chroococcum*. Среди целлюлозоразрушающих микроорганизмов доминировали *Cellulomonas* и *Cellvibrio* (табл. 2).

Таблица 2

Численность микроорганизмов (м/о) почвы при проведении технологических приемов ремедиации

Группа микроорганизмов	Число м/о до загрязнения и ремедиации (контроль) КОЕ/г (M±m)	Число м/о в почве на экспериментальных участках после загрязнения и ремедиации, КОЕ/г (M±m)			
		Участок №1	Участок №2	Участок №3	Участок №4
Азотфиксирующие бактерии	$12 \times 0,07 \times 10^5$	$1,2 \pm 0,3 \times 10^5$	$15,4 \pm 0,3 \times 10^5$	$20,6 \pm 0,5 \times 10^5$	$23,3 \pm 0,1 \times 10^5$
Актиномицеты	$20,5 \pm 0,4 \times 10^4$	$4,5 \pm 0,1 \times 10^4$	$16,3 \pm 0,4 \times 10^4$	$18,5 \pm 0,3 \times 10^4$	$27,2 \pm 0,2 \times 10^4$
Гетеротрофные бактерии	$16,8 \pm 0,3 \times 10^7$	$12,6 \pm 0,4 \times 10^6$	$21,2 \pm 0,3 \times 10^6$	$55,9 \pm 0,6 \times 10^6$	$77,1 \pm 0,4 \times 10^6$
Плесневые грибы	$21,0 \pm 0,1 \times 10^4$	$7,4 \pm 0,3 \times 10^3$	$11,7 \pm 0,2 \times 10^3$	$15,2 \pm 0,3 \times 10^3$	$22,9 \pm 0,3 \times 10^3$
Целлюлозоразрушающие бактерии	$3,2 \pm 0,07 \times 10^2$	$2,3 \pm 0,2 \times 10^2$	$4,4 \pm 0,3 \times 10^2$	$16,2 \pm 0,4 \times 10^2$	$22,6 \pm 0,2 \times 10^2$

Примечание. 1 – участок почвы, загрязненный пестицидом; 2 – участок почвы, загрязненный пестицидом + агротехнические приемы; 3 – участок почвы, загрязненный пестицидом + агротехнические приемы + биодеструктор; 4 – участок почвы, загрязненный пестицидом + агротехнические приемы + биодеструктор + капсулы.

Оценка полученных результатов позволила выявить стимулирование биологической активности почвы при использовании всех изученных технологий. Доказано, что внесение деструктора пестицида на участках № 3 и № 4 приводит к увеличению видового разнообразия и наибольшей активизации процессов размножения микроорганизмов, осуществляющих детоксикацию почвы. Следует отметить тот факт, что внесение капсулированного препарата деструктора в меньшей концентрации, чем некапсулированного,

благоприятно влияет на бактериальную микрофлору, содержащуюся в почве. Возможно, использование иммобилизованного на капсулах штамма позволяет длительно сохранять в почве высокий титр деструктора и осуществлять более полную деградацию препарата. Интродукция штамма *Pseudomonas putida* П2 в почву не вызвала нарушения микробного баланса автохтонной микрофлоры, а наоборот, активизировала микробиологические процессы, ответственные за детоксикацию.



*Оценка показателей концентраций пестицида*

Для контроля концентрации пестицида от-

бор проб осуществляли сразу после внесения препарата, а также на 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки. Полученные данные представлены в табл. 3.

Таблица 3

**Динамика изменения концентрации прометрина в почве экспериментальных участков**

Номер участка	Концентрация действующего вещества (ДВ) прометрина, мг/кг					
	0 сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки	30-е сутки	Степень деструкции, %
1	51,84±0,31	49,67±0,31	48,21±0,35	50,11±0,42	48,39±0,34	6,66
2	50,01±0,21	48,15±0,13	46,65±0,52	44,41±0,36	43,25±0,25	13,5
3	49,87±0,24	34,73±0,16	18,19±0,34	16,47±0,31	15,17±0,17	69,6
4	49,62±0,34	22,44±0,18	11,5±0,25	10,69±0,25	9,46±0,19	80,9

Исходя из полученных результатов можно отметить, что на участках № 1 и № 2 концентрация ДВ прометрина снизилась незначительно по сравнению с участками № 3 и № 4, где были применены технологии рекультивации с использованием биодеструкторов и агроприемов. Применение агроприемов без использования биодеструкторов (участок № 2) не оказало заметного влияния на изменение концентрации ДВ прометрина в почве по сравнению с контрольным участком № 1. Наибольшая степень деструкции (80%) наблюдалась на участке № 4, на котором проводили агротехнические приемы и вносили капсулированный препарат.

Таким образом, на основании полученных результатов микробиологического и химического анализов образцов почв можно констатировать тот факт, что применение микрокапсулирован-

ного биопрепарата в сочетании с агроприемами наиболее эффективно по сравнению с другими вариантами процессов биоремедиации. Степень деструкции составила 70–80%. Применение только агроприемов без внесения деструктора стимулировало активность аборигенной микрофлоры в меньшей степени, а степень деструкции не превышала 13,5%.

В связи с вышеизложенным для ремедиации земель Нижнего Поволжья типа «чернозем южный», загрязненных гербицидом «Гезагард», следует применять технологический прием, использованный на участке №4 (рыхление, полив, внесение биодеструктора в виде микрокапсулированного препарата), обеспечивающий оптимальные условия для деградации пестицида (табл. 4). Применение указанной технологии позволяет максимально задействовать все механизмы очищения.

Таблица 4

**Технологические приемы ремедиации почвы, загрязненной гербицидом «Гезагард»**

№ участка (m <sub>почвы</sub> = 2240 кг)	Объем воды, л			Углеводно-минеральная добавка: аммиачная селитра/ нитроаммофоска/ сахара, г	Концентрация взвеси биодеструктора, кл/мл	Количество микрокапсул, г
	Предварительный полив	Периодическое увлажнение	Приготовление биопрепарата			
1	390	50	50	–	–	–
2	390	50	50	672 / 672 / 2240	–	–
3	390	50	50	672 / 672 / 2240	4,48 × 10 <sup>9</sup>	–
4	390	50	50	672 / 672 / 2240	4,48 × 10 <sup>8</sup>	1282

**Список литературы**

- Захаренко В. А. Гербициды. М. : Агропромиздат, 1990. 194 с.
- Лебедева Г. Ф., Агапов В. И., Благовещенский Ю. Н., Самсонова В. П. Гербициды и почва. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1990. 492 с.
- Федоров Л. А., Яблоков А. В. Пестициды – токсический удар по биосфере и человеку. М. : Наука, 1999. 462 с.
- Колупаев А. В., Ашихмина Т. Я., Широких И. Г. Реакция почвенных микромицетов на пестицидное загрязнение // Иммунология, аллергология, инфектология. 2009. № 2. С. 50–51.



5. Кочетков И. Н., Иванченко В. В., Борисов С. Ю. Ге-загард, дуал-голд, фюзилад форте в защите посевов от сорняков // Специалисты АПК нового поколения : материалы IV Всерос. науч.-практ. конф. Саратов : СГАУ, 2010. С. 96–98.
6. Иванова Е. В., Ксенофонтова О. Ю. Почвенные микроорганизмы деструкторы «Прометрина» // Биотехнология : реальность и перспективы в сельском хозяйстве : материалы Междунар. науч.-практ. конф. Саратов : Изд-во «КУБиК», 2013. С. 253–255.
7. Козлова А. А. Учебная практика по физике почв : учеб.-метод. пособие. Иркутск : Изд-во ИГУ, 2009. 81 с.
8. Нетрусов А. И., Егорова М. А., Захарчук Л. М. и др. Большой практикум по микробиологии : учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / под ред. А. И. Нетрусова. М. : Академия, 2005. 608 с.
9. Сидоров М. А., Скородумов Д. И., Федотов В. Б. Определитель зоопатогенных микроорганизмов / под ред. М. А. Сидорова. М. : Колос, 1995. 319 с.
10. Петерсон А. М., Чиров П. А. Практические рекомендации для идентификации сапрофитных и условно-патогенных бактерий по фенотипическим признакам : для студ. биол. фак-та. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2005. 20 с.
11. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов / пер. с англ. М. : Мир, 2001. 486 с.
12. РД 52.18.188–2001 Определение массовой доли триазиновых гербицидов симазина и прометрина в пробах почвы. URL: [eolan.com.ru/catalog/337/13385](http://eolan.com.ru/catalog/337/13385) (дата обращения: 12.01.13).
13. ГОСТ 17.4.4.02–84 Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. URL: [chem/ib.msk.vu/Chembooks/documentation/GOST\\_17.4.4.02-84.pdf](http://chem/ib.msk.vu/Chembooks/documentation/GOST_17.4.4.02-84.pdf) (дата обращения: 12.01.13).
14. Звягинцев Д. Г. Почва и микроорганизмы. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1987. 256 с.
15. Звягинцев Д. Г. Некоторые концепции строения и функционирования комплекса почвенных микроорганизмов // Вестн. Моск. ун-та. 1978. № 4. С. 63–72.
16. Звягинцев Д. Г. Успехи и современные проблемы почвенной микробиологии // Почвоведение. 1988. № 10. С. 44–51.
17. Звягинцев Д. Г., Бабьева И. П., Зенова Г. М. Биология почв. М. : Изд-во Моск. ун-та, 2005. 445 с.

УДК 633.174:58.084.1:581.1

## УСТОЙЧИВОСТЬ НЕКОТОРЫХ СОРТОВ ЗЕРНОВОГО СОРГО К РАЗНОКАЧЕСТВЕННОМУ ЗАСОЛЕНИЮ

В. В. Коробко<sup>1</sup>, Д. П. Волков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет

E-mail: v.v.korobko@mail.ru

<sup>2</sup>ФГБНУ РосНИИСК «Россорго», Саратов

E-mail: rossorgo@yandex.ru

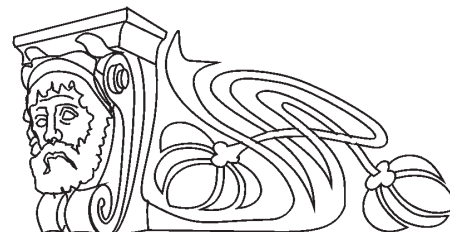
Определена всхожесть семян некоторых сортов зернового сорго в условиях различного засоления. Установлена степень устойчивости исследованных сортов к хлоридному, сульфатному и смешанным типам засоления. Выявлены некоторые особенности развития проростков сортов, различающихся по степени устойчивости к определенным типам засоления субстрата.

**Ключевые слова:** сорго, хлоридное засоление, сульфатное засоление, смешанное засоление, проросток, рост.

### The Tolerance of Seedlings of Some Varieties of Grain Sorghum in Various Types of Salinity

V. V. Korobko, D. P. Volkov

The authors determined the seed germination of some varieties of grain sorghum in different types of salinity. The degree of stability of the investigated varieties in condition of chloride, sulfate, and mixed type of salinity estimated. The features of development of seedling varieties, which differ in the degree of salt tolerance, identified.



**Key words:** sorghum, chloride salinity, sulfate salinity, mixed salinity, seedling, growth.

Действие засоления имеет комплексный характер и обусловлено как нарушением осмотического баланса клетки, что негативно сказывается на водном режиме растений, так и прямым токсическим влиянием ионов на физиологические и биохимические процессы в клетке. Культурные растения характеризуются сравнительно ограниченной выносливостью к засолению субстрата, испытывают заметное угнетение роста и снижают свою урожайность [1]. По этой причине выведение солеустойчивых форм до настоящего времени является одной из приоритетных задач селекционной работы [2].

Сорго – продуктивная кормовая культура, важнейшими биологическими особенностями ко-



торой является способность к произрастанию на почвах разного механического состава и высокая солеустойчивость. Сахарное и зерновое сорго лучше других кормовых культур переносят засоление почвы, формируют высокие урожаи фитомассы. В ранних исследованиях установлено, что сорта зернового сорго весьма существенно отличаются по степени устойчивости к различным типам засоления субстрата [3,4].

Цель настоящего исследования – оценить степень устойчивости среднепоздних и среднеспелых сортов зернового сорго к различным типам засоления и выявить особенности роста и развития проростков в условиях разнокачественного засоления.

Определение степени солеустойчивости растений по изменению их продуктивности под влиянием фактора засоления связано с рядом сложностей, в связи с этим применяют лабораторные методы диагностики, как прямые так и косвенные [5]. Используемый в настоящей работе метод определения степени устойчивости сортов по всхожести семян зарекомендовал себя как надежный, обеспечивающий достоверность и объективность результатов, не сложный технически и высокопроизводительный [6].

#### Материалы и методы

Исследования проводились на кафедре микробиологии и физиологии растений СГУ. Объектами исследования служили среднеспелые и среднепоздние сорта зернового сорго, возделываемые в настоящее время и являющиеся перспективными. Семенной материал был получен из ФГБНУ РосНИИСК «Россорго».

Засоление, вызванное высокими концентрациями одной соли, встречается в естественных ус-

ловиях редко, обычно в почве присутствуют смеси солей в различных соотношениях. Для проведения исследования использовали чистые растворы хлорида и сульфата натрия, а также смешанные в следующих пропорциях: 1:3, 2:2, 3:1. Концентрации растворов соответствовали осмотическому давлению 1,2 МПа, согласно общепринятой для данной культуры методике [6]. Для исследования использовали неповрежденные, выровненные по размеру семена одной репродукции. Для получения контрольных значений семена проращивали на дистиллированной воде. Опыт проводили в трех повторностях при температуре 24° С ( $n=100$ ). Всхожесть определяли на 7-й день с поправкой на контрольные значения:  $A = B/C \cdot 100\%$ , где  $B$  – количество семян, проросших в опыте;  $C$  – количество семян, проросших в контроле.

Для определения степени устойчивости сорта распределяли на классы, предварительно рассчитав величину интервала ( $K$ ) между ними:  $K = (P_{\text{макс.}} - P_{\text{мин.}})/r$ , где  $P_{\text{макс.}}$  – максимальное значение всхожести;  $P_{\text{мин.}}$  – минимальное значение всхожести. Количество классов определили по формуле:  $r = 1 + 3,3 \log m$ , где  $r$  – число классов устойчивости;  $m$  – число исследуемых сортов. Величину интервала между классами устойчивости рассчитывали отдельно для каждого варианта опыта.

Количественный учет роста растений проводили на 10-е сутки по значениям абсолютно сухой массы корневой системы и побега, а также их соотношению, как показателя корнеобеспеченности проростка ( $n = 30$ ).

#### Результаты и их обсуждение

Всхожесть семян сорго зернового в условиях разнокачественного засоления составила от 19,2 до 97% от контрольных значений (табл. 1).

Таблица 1

Всхожесть семян зернового сорго в условиях разнокачественного засоления, % от контрольных значений

Сорт	Тип засоления (NaCl:Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )				
	4:0	0:4	1:3	2:2	3:1
Среднеспелые					
Круста	83,0±6,1	87,0±5,4	84,0±5,9	85,0±5,8	85,0±5,8
Волжское 4	97,0±2,8	96,0±3,2	96,0±3,2	90,0±4,9	68,0±7,5
Восковидное Волжское 4	27,0±7,2	78,0±6,7	46,0±8,1	60,0±7,9	45,0±8,0
A <sub>2</sub> КВВ114♀	42,3±8,0	38,5±2,0	19,2±6,4	34,0±7,9	42,3±8,0
Среднепоздние					
Волжское 5	34,0±7,7	89,0±5,1	65,0±7,7	49,0±6,1	34,0±8,0
Волжское 8	42,0±8,0	56,0±8,0	44,0±8,0	35,0±7,7	45,0±8,0
Мутант 39	52,0±8,1	57,0±8,0	82,0±6,2	65,0±7,7	21,0±6,6
ПСИ128/05	73,0±7,2	72,0±7,3	47,0±8,1	61,0±7,9	74,0±7,1



На основании полученных данных сорта распределены на четыре класса устойчивости (табл. 2). Высокоустойчивыми являются сорта четвертого класса. Степень устойчивости сортов

третьего класса определена как средняя. Сорта, относящиеся ко второму классу, являются слабоустойчивыми, к первому – неустойчивыми.

Таблица 2

## Распределение сортов зернового сорго по группам устойчивости к различным типам засоления

Класс устойчивости	Тип засоления (NaCl:Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )				
	4:0	0:4	1:3	2:2	3:1
I			A <sub>2</sub> КВВ114♀		
II	Восковидное Волжское 4, Волжское 5*'				Мутант 39
III	A <sub>2</sub> КВВ114♀*, Волжское 8', Мутант39	A <sub>2</sub> КВВ114♀	Восковидное Волжское 4, Волжское 8, ПСИ128/05	Волжское 8, A <sub>2</sub> КВВ114♀	Восковидное Волжское 4, A <sub>2</sub> КВВ114♀, Волжское 8, Волжское 5
IV	Круста, Волжское 4, ПСИ128/05	Круста, Волжское 4, Восковидное Волжское 4, Волжское 5, Волжское 8, Мутант 39, ПСИ128/05	Круста, Волжское 4, Волжское 5, Мутант 39	Круста, Волжское 4, Восковидное Волжское 4, Волжское 5, Мутант 39, ПСИ128/05	Круста, Волжское 4, ПСИ128/05

Примечание: \*, ' – различия между сортами статистически не достоверны.

Практически все исследованные сорта являются высокоустойчивыми в условиях сульфатного и смешанного в равных долях засоления. Исключение составили среднеустойчивый при данных типах засоления сорт A<sub>2</sub>КВВ 114♀ и среднеустойчивый при смешанном (2:2) засолении сорт Волжское 8. В условиях хлоридного засоления высокую устойчивость проявили сорта Круста, Волжское 4 и ПСИ 128/05; среднюю – сорта A<sub>2</sub>КВВ 114♀, Волжское 8 и Мутант 39; слабоустойчивыми являются Восковидное Волжское 4 и Волжское 5. При проращивании зерновок на смешанном солевом растворе с преобладанием сульфата натрия высокоустойчивы сорта Круста, Мутант 39, Волжское 4, Волжское 5; среднеустойчивы – ПСИ 128/05, Волжское 8, Восковидное Волжское 4. Среднеспелый сорт A<sub>2</sub>КВВ 114♀ при сульфатно-хлоридном засолении является неустойчивым. В условиях хлоридно-сульфатного засоления высокой устойчивостью характеризуются проростки сорта Круста, Волжское 4, ПСИ 128/05; среднеустойчивыми являются Восковидное Волж-

ское 4, A<sub>2</sub>КВВ 114♀, Волжское 8 и Волжское 5; сорт Мутант 39 слабоустойчив.

Для оценки влияния разнокачественного засоления на рост растений использовали показатель корнеобеспеченности проростков. Корнеобеспеченность контрольных растений составила от 0,2 (A<sub>2</sub>КВВ 114♀) до 0,7 (Волжское 4) относительных единиц (отн.ед.) (табл. 3). В ряде вариантов опыта корнеобеспеченность растений определить не удалось в связи с низкой всхожестью семян ( $n < 30$ ).

При сравнении экспериментальных данных с контрольными значениями установлено, что в условиях хлоридного засоления у проростков всех среднеспелых и среднепоздних сортов зернового сорго соотношение сухой массы корневой системы и побега превышает контрольные значения, в наибольшей степени это проявляется у слабоустойчивого сорта Волжское 5.

При культивировании объектов исследования на растворе сульфата натрия корнеобеспеченность проростков всех высокоустойчивых при данном типе засоления сортов составила от 60%



(Волжское 8, ПСИ 128/05) до 85% относительно контроля (Волжское 4). Исключениями являются высокоустойчивый сорт Мутант 39, показатель корнеобеспеченности которого в 1,25 раз превы-

сил контрольное значение, а также среднеустойчивый сорт А<sub>2</sub>КВВ 114♀, у проростков которого данный показатель не изменился относительно контроля.

Таблица 3

**Влияние разнокачественного засоления на корнеобеспеченность проростков зернового сорго, отн. ед.**

Сорт	Контроль	Тип засоления (NaCl:Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )				
		4:0	0:4	1:3	2:2	3:1
Среднеспелые						
Круста	0,6	0,8	0,4	0,3	0,6	0,6
Волжское 4	0,7	0,8	0,6	0,6	1,0	1,0
Восковидное Волжское 4	0,4	–	0,3	0,3	1,0	0,4
А <sub>2</sub> КВВ 114♀	0,2	0,3	0,2	–	0,4	0,3
Среднепоздние						
Волжское 5	0,4	0,8	0,3	0,5	1,3	0,4
Волжское 8	0,5	0,6	0,3	0,3	0,8	0,5
Мутант 39	0,4	0,5	0,5	0,5	0,7	–
ПСИ 128/05	0,5	0,6	0,3	0,4	0,5	0,3

В условиях смешанного в равных долях засоления значение корнеобеспеченности проростков сортов Круста и ПСИ 128/05 не изменилось, для всех остальных сортов отмечено повышение данного показателя относительно контрольных значений. Максимальные различия между корнеобеспеченностью проростков в опыте и контроле свойственны сортам Волжское 5 (в 3,25 раза), Восковидное Волжское 4 (в 2,5 раза), А<sub>2</sub>КВВ 114♀ (в 2 раза).

Исследование развития проростков в условиях сульфатно-хлоридного засоления показало, что у высокоустойчивых среднепоздних сортов Мутант 39 и Волжское 5 исследуемый показатель превышает контрольные значения в 1,25 раза, тогда как у проростков других сортов значение корнеобеспеченности проростков составляет от 50-60% (Круста, Волжское 8) до 75–85% (Восковидное Волжское 4, ПСИ 128/05, Волжское 4) от контроля.

При выращивании семян в условиях смешанного засоления с преобладанием раствора хлорида натрия показатель корнеобеспеченности не меняется у проростков среднеустойчивых сортов Волжское 8, Волжское 5, Круста, Восковидное Волжское 4; возрастает по сравнению с контрольными значениями в 1,2–1,4 раза у среднеспелых сортов А<sub>2</sub>КВВ 114♀ и Волж-

ское 4. У проростков сорта ПСИ 128/05 показатель корнеобеспеченности составил 60% от контрольного значения.

Таким образом, среди изученных сортов два среднеспелых, а именно Круста и Волжское 4, которые проявили высокую устойчивость ко всем без исключения типам засоления. Неустойчивым является сорт А<sub>2</sub>КВВ 114♀ при сульфатно-хлоридном засолении, тогда как в других вариантах опыта он характеризуется как слабоустойчивый. Для остальных сортов характерна различная степень устойчивости в зависимости от типа засоления. На основании сравнительного анализа значений корнеобеспеченности опытных и контрольных растений выявлены некоторые особенности развития проростков изученных сортов сорго, различающихся по степени устойчивости к определенным типам засоления субстрата.

Определение степени солеустойчивости, выявление особенностей развития проростков среднеспелых и среднепоздних сортов зернового сорго в условиях разнокачественного засоления, наряду с дальнейшим изучением внутренней сущности метаболических процессов, обуславливающих тот или иной уровень солеустойчивости, имеют значение для целенаправленного использования сортового многообразия данной культуры.



#### Список литературы

1. Шамсутдинов З. Ш., Савченко И. В. Выявление адаптивного потенциала флоры для фитомелиорации для засоленных земель // Аграрная наука. 1996. № 2. С. 31–32.
2. Гасанов Г. Н., Мусаев М. Р., Мамалаева А. О. Сорго, не боящееся соли // Кукуруза и сорго. 2007. № 4. С. 22–23.
3. Жук Е. А., Волков Д. П., Коробко В. В. Оценка сортообразцов зернового сорго по устойчивости к засолению // Кукуруза и сорго. 2012. № 3. С. 8–10.
4. Коробко В. В., Волков Д. П., Жук Е. А., Букарев Р. В. Определение устойчивости и особенностей развития проростков зернового сорго в условиях разнокачественного засоления // Изв. Саратовского университета. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2012. Т. 12, вып. 4. С. 67–71.
5. Удовенко Г. В., Синельникова В. Н., Давыдова Г. В. Оценка солеустойчивости растений // Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям : метод. руководство. Л., 1988. 85 с.
6. Давыдова Г. В., Малиновский Б. Н. Определение солеустойчивости сортов проса и сорго по прорастанию семян в солевых растворах. Л., 1988. 10 с.



## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Абраменкова Ольга Игоревна** – старший научный сотрудник Федерального центра охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир), канд. хим. наук. E-mail: amelinvg@mail.ru

**Акчурин Сергей Вячеславович** – научный сотрудник НИТЦ «Экохим» (г. Саратов). E-mail: akchurin.serzh@yandex.ru

**Алыкова Ольга Михайловна** – доцент кафедры общей физики физико-технического факультета Астраханского государственного университета, канд. пед. наук. E-mail: olga-alykova@mail.ru

**Амелин Василий Григорьевич** – профессор кафедры химии Владимирского государственного университета, д-р хим. наук. E-mail: amelinvg@mail.ru

**Андрюхина Ирина Юрьевна** – младший научный сотрудник НИО Биотехнологий ООО «НИИТОНХИБТ» (г. Саратов). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Архипова Екатерина Александровна** – ведущий инженер кафедры ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: sedova\_ov@mail.ru

**Ахмадуллин Рустем Шамилевич** – аспирант Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы (г. Уфа). E-mail: rust\_a@mail.ru

**Балтаева Светлана Юрьевна** – студент биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: alexandra.peterson@yandex.ru

**Басова Елена Васильевна** – младший научный сотрудник НИО Биотехнологий ООО «НИИТОНХИБТ» (г. Саратов). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Барышникова Елена Александровна** – главный конструктор ЗАО БНТ (г. Москва), канд. хим. наук. E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Березуцкий Михаил Александрович** – профессор кафедры методики преподавания биологии и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, д-р биол. наук. E-mail: bereztsky61@mail.ru

**Болдырев Владимир Александрович** – заведующий кафедрой ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, профессор, д-р биол. наук. E-mail: boldyrevva@info.sgu.ru

**Буров Андрей Михайлович** – ведущий инженер лаборатории иммунохимии ФГБУН Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов). E-mail: gulyi\_olga@mail.ru

**Волков Дмитрий Петрович** – младший научный сотрудник отдела селекции и первичного семеноводства кукурузы и трав ФГБНУ РосНИИСК «Россопро». E-mail: genomix@mail.ru

**Волкова Наталья Михайловна** – аспирант Владимирского государственного университета. E-mail: amelinvg@mail.ru

**Володин Дмитрий Юрьевич** – студент биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: gulyi\_olga@mail.ru

**Голец Александр Владимирович** – заместитель директора по научной работе ООО НПП «ЛИССКОН» (г. Саратов). E-mail: ag707@inbox.ru

**Гребенщикова Виктория Алексеевна** – научный сотрудник НИО биотехнологий ООО «НИИТОНХИБТ» (г. Саратов). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Григорович Максим Александрович** – заведующий лабораторией экотоксикологии Регионального центра по обеспечению государственного экологического контроля и мониторинга объектов по хранению и уничтожению химического оружия по Курганской области (г. Курган), канд. биол. наук. E-mail: kurgan-rc@yandex.ru

**Гулий Ольга Ивановна** – ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии микроорганизмов ФГБУН Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов). E-mail: gulyi\_olga@mail.ru

**Давиденко Ольга Николаевна** – доцент кафедры ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: biosovet@sgu.ru

**Демахин Анатолий Григорьевич** – главный научный сотрудник ФБУ ГосНИИЭНП (г. Саратов), профессор, д-р хим. наук. E-mail: demakhin@rambler.ru

**Демина Ирина Владимировна** – аспирант биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: marka26@yandex.ru

**Джалмухамбетова Елена Азатулаевна** – доцент кафедры общей физики физико-технического факультета Астраханского государственного университета, канд. физ.-мат. наук. E-mail: alenna@list.ru

**Евдокимов Александр Николаевич** – научный сотрудник лаборатории экотоксикологии Регионального центра по обеспечению государственного экологического контроля и мониторинга объектов по хранению и уничтожению химического оружия по Курганской области (г. Курган). E-mail: kurgan-rc@yandex.ru

**Ермохин Михаил Валентинович** – доцент кафедры морфологии и экологии животных биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: ecoton@rambler.ru

**Живайкина Юлия Анатольевна** – младший научный сотрудник НИО Биотехнологий ООО «НИИТОНХИБТ» (г. Саратов). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Жигачева Ольга** – аспирант Волгоградского государственного университета. E-mail: zhigacheva88@mail.ru





**Зайцев Глеб Анатольевич** – главный научный сотрудник Института биологии Уфимского научного центра РАН (г. Уфа), доцент, д-р биол. наук. E-mail: smu@anrb.ru

**Захарова Тамара Витальевна** – доцент кафедры общей и неорганической химии Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, канд. хим. наук. E-mail: zacharova\_tv@mail.ru

**Зинина Евгения Александровна** – аспирант Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: evgeniyaaz@rambler.ru

**Зинченко Екатерина Михайловна** – инженер кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: Odonata1108@yandex.ru

**Иванова Елена Владимировна** – аспирант биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Игнатов Владимир Владимирович** – заведующий лабораторией биохимии ФГБУН Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов), профессор, д-р биол. наук. E-mail: secret@ibppm.sgu.ru

**Игнатов Олег Владимирович** – заведующий лабораторией физиологии микроорганизмов ФГБУН Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов). E-mail: oignatov@mail.ru

**Ильин Константин Кузьмич** – профессор кафедры общей и неорганической химии Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, д-р хим. наук. E-mail: ilinkk@info.sgu.ru

**Казаринов Иван Алексеевич** – заведующий кафедрой физической химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, профессор, д-р хим. наук. E-mail: kazarinovia@mail.ru

**Кашин Александр Степанович** – профессор кафедры методики преподавания биологии и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, д-р биол. наук. E-mail: kashinas2@yandex.ru

**Коннова Светлана Анатольевна** – заведующий кафедрой биохимии и биофизики биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов), д-р биол. наук. E-mail: konnovasa@yandex.ru

**Коробко Валерия Валерьевна** – доцент кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: v.v.korobko@mail.ru

**Ксенофонтова Оксана Юрьевна** – доцент кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Кудрин Борис Иванович** – старший научный сотрудник лаборатории экотоксикологии Регионального центра по обеспечению государственного экологического контроля и монито-

ринга объектов по хранению и уничтожению химического оружия по Курганской области (г. Курган), канд. мед. наук. E-mail: kurgan-rc@yandex.ru

**Лаврентьев Михаил Владимирович** – инженер кафедры ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: mihailavrentev@yandex.ru.

**Лыкова Екатерина Юрьевна** – доцент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: eckaterina\_lykova@mail.ru

**Макарихина Светлана Сергеевна** – аспирант ФГБУН Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов). E-mail: bastete27@mail.ru

**Мальшина Марина Сергеевна** – аспирант биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: formicarum@mail.ru

**Муштакова Светлана Петровна** – заведующий кафедрой общей и неорганической химии Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, профессор кафедры, д-р хим. наук. E-mail: mushtakovasp@info.sgu.ru

**Невский Сергей Александрович** – доцент кафедры ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: biosovet@sgu.ru

**Олискевич Владимир Владимирович** – директор ООО «НИИТОНХИБТ» (г. Саратов), канд. тех. наук. E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Павлий Сергей Александрович** – аспирант биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: gulyi\_olga@mail.ru

**Панкратов Алексей Николаевич** – профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, д-р хим. наук. E-mail: PankratovAN@info.sgu.ru

**Петерсон Александра Михайловна** – доцент кафедры микробиологии и физиологии растений биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: alexandra.peterson@yandex.ru

**Петракова Анастасия Васильевна** – студент Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: SuminaEG@yandex.ru

**Плотникова Ольга Михайловна** – научный руководитель Регионального центра по обеспечению государственного экологического контроля и мониторинга объектов по хранению и уничтожению химического оружия по Курганской области (г. Курган), доцент кафедры физической и прикладной химии Курганского государственного университета, канд. хим. наук. E-mail: plotnikom@yandex.ru

**Пожаров Михаил Владимирович** – аспирант Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: PozharovMV@info.sgu.ru



**Полуконова Наталья Владимировна** – профессор кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники Саратовского государственного медицинского университета им. В. И. Разумовского. E-mail: polukonovanv@yandex.ru

**Правдивцева Мария Ивановна** – младший научный сотрудник НИО биотехнологий ООО «НИИТОНХиБТ» (г. Саратов). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Самтанова Данара Эрдниевна** – аспирант Калмыцкого государственного университета, г. Элиста. E-mail: lobsan@bk.ru.

**Сангаджиева Людмила Халгаевна** – профессор кафедры химии факультета педагогического образования и биологии Калмыцкого государственного университета (г. Элиста), д-р биол. наук. E-mail: lobsan@bk.ru

**Севрюгин Александрович Владиславович** – студент Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: cherkasovdg@info.sgu.ru

**Селезнев Михаил Владимирович** – магистр Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: evgeniyaaz@rambler.ru

**Сивко Ольга Николаевна** – студент биологического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: gulyi\_olga@mail.ru

**Скиданов Евгений Викторович** – директор ООО НПП «ЛИССКОН» (г. Саратов). E-mail: skev@list.ru

**Соколов Олег Игоревич** – заведующий лабораторией физиологии растительной клетки ФГБУ Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов). E-mail: gulyi\_olga@mail.ru

**Сорокин Виталий Викторович** – профессор кафедры органической и биоорганической химии Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, д-р хим. наук. E-mail: evgeniyaaz@rambler.ru

**Сорокина Ольга Николаевна** – старший преподаватель кафедры химии Саратовского государственного аграрного университета им. Н. И. Вавилова. E-mail: Sorokina-O-N@yandex.ru

**Сосновских Елена Николаевна** – младший научный сотрудник экоаналитической лаборатории Регионального центра по обеспечению государственного экологического контроля и мониторинга объектов по хранению и уничтожению химического оружия по Курганской области (г. Курган). E-mail: kurgan-rc@yandex.ru

**Сумина Елена Германовна** – профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, д-р хим. наук. E-mail: SuminaEG@yandex.ru

**Суркина Алина Кямилевна** – младший научный сотрудник лаборатории биохимии ФГБУН Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов). E-mail: surkina-ak@mail.ru

**Талаловская Наталья Михайловна** – управляющий директор ООО «НИИТОНХиБТ» (г. Саратов). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Тимофеев Артем Андреевич** – аспирант Владимирского государственного университета. E-mail: amelinvg@mail.ru

**Третьяков Алексей Викторович** – заведующий лабораторией контроля микроорганизмов, химических веществ, ГМО и радионуклидов в продукции Федерального центра охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир), канд. хим. наук. E-mail: abramenkova@arriah.ru

**Третьякова Светлана Эдуардовна** – начальник НИО биотехнологий ООО «НИИТОНХиБТ» (г. Саратов). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Углонова Варсения Загидовна** – доцент кафедры нефтехимии и техноферной безопасности Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, канд. хим. наук. E-mail: AtayanVZ@rambler.ru

**Угольников Екатерина Владимировна** – аспирант Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского. E-mail: kashinas2@yandex.ru

**Федоненко Юлия Петровна** – старший научный сотрудник лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), канд. биол. наук. E-mail: room308@ibppm.sgu.ru

**Черкасов Дмитрий Геннадиевич** – доцент кафедры общей и неорганической химии Института химии Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, канд. хим. наук. E-mail: cherkasovdg@info.sgu.ru

**Элькин Михаил Давыдович** – профессор кафедры прикладной физики физического факультета Саратовского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского, д-р физ.-мат. наук. E-mail: elkinmd@mail.ru



## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Abramenkova Olga Igorevna** – Senior Research Assistant, Federal Centre for Animal Health (FGBI «ARRIAH», Vladimir), PhD. E-mail: amelinvg@mail.ru

**Akchurin Sergey Viacheslavovich** – Research Assistant, Ekokhim (Saratov). E-mail: akchurin.serzh@yandex.ru

**Alykova Olga Mikhailovna** – Associate Professor, Chair of General Physics, Physico-Technical Department, Astrakhan State University, Ph. D. E-mail: olga-alykova@mail.ru

**Amelin Vasilii Grigorievich** – Professor, Chair of Chemistry, Vladimir State University, Doctor of Chemical Science. E-mail: amelinvg@mail.ru

**Adryuchina Irina Yurievna** – Junior Researcher, «NIITONHiBT» (Saratov). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Arkipova Ekaterina Aleksandrovna** – Chief Engineer, Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: sedova\_ov@mail.ru

**Akhmadullin Rustem Shamilevich** – Graduate Student, Bashkir State Pedagogical University (Ufa). E-mail: rust\_a@mail.ru

**Baltaeva Svetlana Yurievna** – Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: alexandra.peterson@yandex.ru

**Basova Elena Vasilievna** – Junior Researcher, «NIITONHiBT» (Saratov). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Baryshnikova Elena Alexandrovna** – Chief Designer, «NIITONHiBT» (Saratov). PhD. E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Berezutsky Michail Aleksandrovich** – Professor, Chair of Methods of Teaching of Biology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Doctor of Biological Science. E-mail: berezutsky61@mail.ru

**Boldyrev Vladimir Alexandrovich** – Professor, Head of Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Doctor of Biological Science. E-mail: boldyrevva@info.sgu.ru

**Burov Andrey Michailovich** – Chief Engineer, Laboratory of Immunochemistry, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov). E-mail: gulyi\_olga@mail.ru

**Cherkasov Dmitry Gennadievich** – Associate Professor, Chair of General and Inorganic Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University, Ph. D. E-mail: cherkasovdg@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

**Demachin Anatoliy Grigorievich** – Major Research Assistant, GosNIIENP (Saratov), professor, Doctor of Chemistry Science. E-mail: demachin@rambler.ru

**Demina Irina Vladimirovna** – Graduate Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: marka26@yandex.ru

**Dzhalmukhambetova Elena Azatulaevna** – Associate Professor, Chair of General Physics, Physico-Technical Department, Astrakhan State University, PhD. E-mail: alenna@list.ru

**Elkin Mikhail Davydovich** – Professor, Chair of Applied Physics, Physics Department, Saratov State University, Doctor of Physical and Mathematical Sciences. E-mail: elkinmd@mail.ru

**Ermochin Michail Valentinovich** – Associate Professor, Chair of Animals Morphology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: ecoton@rambler.ru

**Evdokimov Alexandr Nikolaevich** – Research Assistant, Laboratory for Ecotoxicology, Regional Center of Environmental Monitoring of Storage and CW Distraction Facilities in the Kurgan region. E-mail: kurgan-rc@yandex.ru

**Fedonenko Yulia Petrovna** – Senior Research Assistant, Laboratory of Biochemistry, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov), PhD. E-mail: room308@ibppm.sgu.ru

**Golets Alexandr Vladimirovich** – Deputy Director, «LISSKON» (Saratov). E-mail: ag707@inbox.ru

**Grebenshchikova Viktoria Alekseevna** – Research Assistant, «NIITONHiBT» (Saratov). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Grigorovich Maksim Alexandrovich** – Head of the Laboratory for Ecotoxicology, Regional Center of Environmental Monitoring of Storage and CW Distraction Facilities in the Kurgan region, PhD. E-mail: kurgan-rc@yandex.ru

**Guliy Olga Ivanovna** – Leading Researcher, Microbial Physiology Laboratory, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov), Doctor of Biological Science. E-mail: gulyi\_olga@mail.ru

**Ignatov Vladimir Vladimirovich** – Head of Laboratory of Biochemistry, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov), Doctor of Biological Science. E-mail: secret@ibppm.sgu.ru

**Ignatov Oleg Vladimirovich** – Head of Laboratory Microbial Physiology Laboratory, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov), Doctor of Biological Science. E-mail: oignatov@mail.ru

**Il'in Konstantin Kuzmich** – Professor, Chair of General and Inorganic Chemistry, Saratov State University, Doctor of Chemical Sciences. E-mail: ilinkk@info.sgu.ru

**Ivanova Elena Vladimirovna** – Graduate Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Kazarinov Ivan Alexeevich** – Head of Chair of Physical Chemistry, Saratov State University, Professor, Doctor of Chemical Sciences. E-mail: kazarinovia@mail.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, Leading Researcher, Laboratory of Biochemistry, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov), Doctor of Biological Science. E-mail: konnovasa@yandex.ru

**Korobko Valeria Valerievna** – Associate Professor, Chair of Microbiology and Plant Physiology, Biological Department, Saratov State University, PhD. E-mail: v.v.korobko@mail.ru

**Ksenofontova Oksana Yurievna** – Associate Professor, Chair of Microbiology and Plant Physiology, Biological Department, Saratov State University, PhD. E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Kudrin Boris Ivanovich** – Senior Research Assistant, Laboratory for Ecotoxicology, Regional Center of Environmental Monitoring of Storage and CW Distraction Facilities in the Kurgan region, PhD. E-mail: kurgan-rc@yandex.ru

**Lavrentev Michail Vladimirovich** – Engineer, Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University. E-mail: mihaillavrentev@yandex.ru.

**Lykova Ekaterina Yurievna** – Associate Professor, Chair of Human and Animal Physiology, Biological Department, Saratov State University, PhD. E-mail: eckaterina\_lykova@mail.ru

**Makarichina Svetlana Sergeevna** – Graduate Student, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov). E-mail: bastete27@mail.ru

**Malyshina Marina Sergeevna** – Graduate Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: formicarum@mail.ru

**Mushtakova Svetlana Petrovna** – Head of Chair of General and Inorganic Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University, Doctor of Chemical Sciences. E-mail: mushtakovasp@info.sgu.ru

**Nevskiy Sergey Alexandrovich** – Associate Professor, Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: biosovet@sgu.ru

**Olishevich Vladimir Vladimirovich** – Director, «NIITONHiBT» (Saratov), PhD. E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Pavliy Sergey Alexandrovich** – Graduate Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: guliy\_olga@mail.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

**Peterson Alexandra Michailovna** – Associate Professor, Chair of Microbiology and Plant Physiology, Biological Department, Saratov State University, PhD. E-mail: alexandra.peterson@yandex.ru

**Petrakova Anastasia Vasilievna** – Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: SuminaEG@yandex.ru

**Plotnikova Olga Michailovna** – Supervisor of Regional Center of Environmental Monitoring of Storage and CW Distraction Facilities in the Kurgan region, PhD. E-mail: plotnikom@yandex.ru

**Pozharov Michail Vladimirovich** – Graduate Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: PozharovMV@info.sgu.ru

**Polukonova Natalya Vladimirovna** – Professor, Chair of General Biology, Botany and Pharmacognosy, Saratov State Medical University. E-mail: polukonovanv@yandex.ru

**Pravdivtseva Maria Ivanovna** – Junior Researcher, «NIITONHiBT» (Saratov). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Samtanova Danara Erdnievna** – Graduate Student, Kalmyk State University (Elista). E-mail: lobsan@bk.ru.

**Sangadjieva Ludmila Halgaevna** – Professor, Chair of Chemistry, Department of Teacher Education and Biology, Kalmyk State University (Elista), Doctor of Biological Science. E-mail:buluktaev89@mail.ru

**Sevryugin Alexandr Vladislavovich** – Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: cherkasovdg@info.sgu.ru

**Seleznev Mikhail Vladimirovich** – Magister, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: evgeniyaz@rambler.ru

**Sivko Olga Nikolaevna** – Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: guliy\_olga@mail.ru

**Skidanov Evgeniy Viktorovich** – Director, «LISSKON» (Saratov). E-mail: skev@list.ru

**Sokolov Oleg Igorevich** – Head of Plant Cell Physiology Laboratory, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov), Doctor of Biological Science. E-mail: guliy\_olga@mail.ru

**Sorokin Vitaliy Viktorovich** – Professor, Chair of Organic and Bioorganic Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University, Doctor of Chemical Science. E-mail: evgeniyaz@rambler.ru

**Sorokina Olga Nikolaevna** – Senior Lecturer, Chair of Chemistry, Saratov State Agrarian University. E-mail: Sorokina-O-N@yandex.ru

**Sosnovskih Elena Nikolaevna** – Junior Researcher, Laboratory for Ecotoxicology, Regional Center of Environmental Monitoring of Storage and CW Distraction Facilities in the Kurgan region. E-mail: kurgan-rc@yandex.ru

**Sumina Elena Germanovna** – Professor, Chair of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, Institute of Chemistry, Saratov State University, Doctor of Chemical Sciences. E-mail: SuminaEG@yandex.ru

**Surkina Alina Kaymilevna** – Junior Researcher, Laboratory of Biochemistry, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (Saratov). E-mail: surkina-ak@mail.ru

**Talalovskaya Natalia Mikhailovna** – Managing Director, «NIITONHiBT» (Saratov). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Timofeev Artem Andreevich** – Graduate Student, Vladimir State University. E-mail: amelinvg@mail.ru

**Tretyakov Alexey Viktorovich** – Head of the Laboratory for Control Microorganisms, Chemicals, GMOs and Radionuclides in the Products, Federal Centre for Animal Health (FGBI «ARRIAH», Vladimir), PhD. E-mail: abramenkova@arriah.ru

**Tretyakova Svetlana Eduardovna** – Chief of «NIITONHiBT» (Saratov). E-mail: ksenofontova64@mail.ru



**Uglanova Varseniya Zagidovna** – Associate Professor, Chair of Oil Chemistry and Technospherical Safety, Institute of Chemistry, Saratov State University, PhD. E-mail: AtayanVZ@rambler.ru

**Ugolnikova Ekaterina Vladimirovna** – Graduate Student, Saratov State University. E-mail: kashinas2@yandex.ru

**Volkov Dmitry Petrovich** – Junior Researcher, Department of Selection and Primary Seed Farming of Corn and Herbs, Rossorgo. E-mail: genomix@mail.ru

**Volkova Natalia Michailovna** – Graduate Student, Vladimir State University. E-mail: amelinvg@mail.ru

**Volodin Dmitriy Yurievich** – Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: guly\_olga@mail.ru

**Zacharova Tamara Vitalievna** – Associate Professor, Chair of General and Inorganic Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University, Ph. D. E-mail: zacharova\_tv@mail.ru

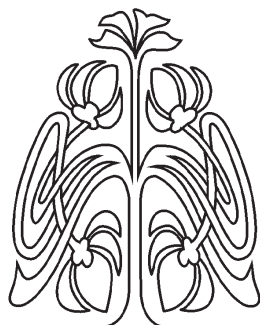
**Zaichev Gleb Anatolievich** – Major Research Assistant, Institute of Biology, Ufa Science Centre, Doctor of Biological Science. E-mail: smu@anrb.ru

**Zhigacheva Olga Ivanovna** – Graduate Student, Volgograd State University. E-mail: zhigacheva88@mail.ru

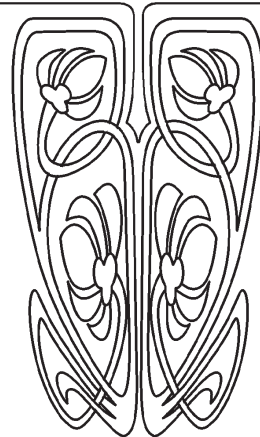
**Zhivaikina Yulia Anatolievna** – Junior Researcher, «NIITONHiBT» (Saratov). E-mail: ksenofontova64@mail.ru

**Zinchenko Ekaterina Michailovna** – Engineer, Chair of Human and Animals Physiology, Biological Department, Saratov State University. E-mail: odonata1108@yandex.ru

**Zinina Evgeniya Aleksandrovna** – Graduate Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: evgeniyaz@rambler.ru



**ПРИЛОЖЕНИЯ**



**Подписка на I полугодие 2014 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.