



## СОДЕРЖАНИЕ

## Научный отдел

## Химия

- Бурмистрова Н. А., Колонтаева О. А., Русанова Т. Ю., Иноземцева О. А., Суетенков Д. Е., Горин Д. А.** Структуры ядро–оболочка и полиэлектронитные капсулы с иммобилизованными кислотно-основными индикаторами 5
- Русанова Т. Ю., Маркин А. В., Юрова Н. С., Бесараб Н. П., Горин Д. А.** Золь-гель материалы с наночастицами серебра для одновременного концентрирования и определения веществ методом гигантского комбинационного рассеяния света 12
- Кумаргалиева Д. Н., Федотова О. В., Мажукина О. А.** Реакция Манниха в ряду замещенных 4-гидрокси-2н-(пирон)хромен-2-онов 19
- Матвеева А. А., Борисова М. Ю., Бойко В. С., Кривенько А. П.** Синтез, пути образования и изомеризация тетразолихиназолинов 24
- Навотный О. И., Стекольников А. А., Решетов В. А., Тиховский Д. А., Ромаденкина С. Б., Козлов А. М.** О возможности использования полимерно-битумных вяжущих на основе асфальтов в дорожном строительстве 27
- Монахова Ю. Б., Цикин А. М., Исакова Ф. М., Муштакова С. П.** Совместное определение кофеина, аспартама и сахараина в газированных напитках методами ЯМР <sup>1</sup>H и УФ-спектроскопии с автомоделным разделением кривых 30

## Биология

- Беляков А. Ю., Плешакова Е. В.** Скрининг микроорганизмов-деструкторов компонентов буровых растворов 37
- Архипова Е. А., Болдырев В. А., Палченко В. Г.** Сборы Turphaceae, Sparganiaceae, Triglochinaceae в гербарии Саратовского государственного университета (SARAT, SARP) 43
- Демихова Д. С., Смолькина Ю. В., Тырнов В. С.** Получение полиэмбрионных андрогенных гаплоидов кукурузы 46
- Рябинин А. С., Новгородова Т. А.** Зоогеографическая характеристика муравьев (Hymenoptera, Formicidae) Южного Зауралья 49
- Тупикин В. Д., Родзаевская Е. Б., Уварова И. А., Шорина Л. Н.** Гисто-функциональная характеристика кортикальных и околосозговых нефронов почки при реакции на экспериментальный стресс 58
- Крицкая Т. А., Кашин А. С.** Использование метода культуры *in vitro* для сохранения некоторых редких и исчезающих кальцефильных видов растений Саратовской области 65
- Павлова Н. С., Аникин В. В., Воронин М. Ю.** Особенности суточной активности муравьев (Hymenoptera, Formicidae) в Саратовской области 73
- Веденеева Н. В., Нечаева О. В.** Использование инновационных фильтрующих материалов для обеззараживания поверхностных вод 76
- Шутова В. В., Ревин В. В., Кудяева Т. В.** Изучение действия гриба *Lentinus (Panus) Tigrinus* на древесные отходы, используемые для получения биоконпозиционных материалов 80
- Решетникова Т. Б., Березуцкий М. А.** Видовой состав и распространение представителей семейства Осоковые на антропогенных местообитаниях южной части Приволжской возвышенности 86
- Торгашкова О. Н.** Процессы функционирования банков семян лесных сообществ Саратовского правобережья 89

## Экология

- Сажнев А. С.** Эколого-фаунистическая характеристика жесткокрылых (Insecta: Coleoptera) переходной зоны «вода–суша» пойменных озер р. Волги Энгельсского района Саратовской области 95
- Давиденко О. Н., Серова Л. А., Невский С. А., Давиденко Т. Н.** Биоценотический потенциал растительности Федерального заказника «Саратовский» 100

## Приложения

## Personalia

- Гелашвили Д. Б., Розенберг Г. С., Шляхтин Г. В.** К 100-летию со дня рождения выдающегося эколога мира Юджина Одума 105

## Сведения об авторах

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

Зарегистрировано в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации СМИ ПИ № 77-7185 от 30 января 2001 года

Индекс издания по каталогу ОАО Агентства «Роспечать» 36013, раздел 26 «Природа. Мир животных и растений». Журнал выходит 4 раза в год.

**Заведующий редакцией**  
Бучко Ирина Юрьевна

**Редактор**  
Митенёва Елена Анатольевна

**Художник**  
Соколов Дмитрий Валерьевич

**Редактор-стилист**  
Степанова Наталия Ивановна

**Верстка**  
Ковалева Наталья Владимировна

**Технический редактор**  
Ковалева Наталья Владимировна

**Корректор**  
Крылова Инна Геннадиевна

**Адрес редакции:**  
410012, Саратов, ул. Астраханская, 83  
Издательство Саратовского университета  
Тел.: (845-2) 52-26-89, 52-26-85

Подписано в печать 18.12.2013.  
Формат 60x84 1/8.  
Усл. печ. л. 13,95 (15,0).  
Тираж 500 экз. Заказ 68.

Отпечатано в типографии  
Издательства Саратовского  
университета

© Саратовский государственный  
университет, 2013

**ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ**

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

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

Статья должна быть аккуратно оформлена и тщательно отредактирована.

Последовательность предоставления материала:

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

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

Требования к аннотации и библиографическому списку:

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

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

Образцы оформления различных источников приведены вместе со стилевым файлом в правилах для авторов по адресу: <http://www.sgu.ru/journal/izvestiya/chem>.

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

Адреса для переписки с редколлегией серии: [ihbe-sgu@yandex.ru](mailto:ihbe-sgu@yandex.ru); 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, биологический факультет, ответственному секретарю журнала «Известия Саратовского университета. Серия Химия. Биология. Экология».

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

- Burmistrova N. A., Kolontaeva O. A., Rusanova T. Yu., Inozemtseva O. A., Suetenkov D. E., Gorin D. A.** Core-shell Structures and Polyelectrolyte Capsules with Immobilized Acid-base Indicators 5
- Rusanova T. Yu., Markin A. V., Yurova N. S., Besarab N. P., Gorin D. A.** Sol-gel Materials with Silver Nanoparticles for Simultaneous Concentration and Detection of Substances by SERS 12
- Kumargalieva D. N., Fedotova O. V., Mazhukina O. A.** The Mannich Reaction in a Number of Substituted 4-hydroxy-2H-(pyron)chromen-2-ones 19
- Matveeva A. A., Borisova M. Yu., Boyko V. S., Krivenko A. P.** The Synthesis, Paths of the Formation and Isomerisation of Tetrazoloquinazolines 24
- Navotnyi O. I., Stekol'nikov A. A., Reshetov V. A., Tikhovsky D. A., Romadyonkina S. B., Kozlov A. M.** On the Possibility of Using Asphalt-based Polymeric-bitumen Binders in Road Building 27
- Monakhova Yu. B., Tsikin A. M., Isakova Ph. M., Mushtakova S. P.** Joint Determination Of caffeine, Aspartame and Saccharin in Carbonated Beverages by <sup>1</sup>H NMR and UV Spectroscopy with Self-modeling Curve Resolution 30

**Biology**

- Belyakov A. Yu., Pleshakova E. V.** Screening of Microorganisms-destroyers Components of Drilling Fluids 37
- Arkipova E. A., Boldyrev V. A., Papchenkov V. G.** Typhaceae, Sparganiaceae, Triglochinaceae in Herbarium of Saratov State University (SARAT, SARP) 43
- Demikhova D. S., Smolkina Yu. V., Tyrnov V. S.** Detection of Aize Polyembryonic Androgenic Haploids 46
- Ryabinin A. S., Novgorodova T. A.** Zoogeographic Analysis of Ants (Hymenoptera, Formicidae) of South Zauralye 49
- Tupikin V. D., Rodzaevskaya H. B., Uvarova I. A., Sorina L. N.** Histology and Functional Characteristic of the Cortical and Juxtamedullary Nephrons in Kidney under Stress at Experiment 58
- Kritskaya T. A., Kashin A. S.** Use of *in vitro* Culture Techniques for Conservation of Some Endangered Calciphilic Plant Species of Saratov Region 65
- Pavlova N. S., Anikin V. V., Voronin M. Yu.** Features Daily Activity Ants (Hymenoptera, Formicidae) in Saratov Region 73
- Vedeneeva N. V., Nechaeva O. V.** The Use of Innovative Filter Materials for Decontamination of Surface Water 76
- Shutova V. V., Revin V. V., Kudaeva T. V.** Study of the Fungus *Lentinus (Panus) Tigrinus* on Wood Waste Used to Produce the Bio-composite Materials 80
- Reshetnikova T. B., Berezutski M. A.** Specific Structure and Distribution of Representatives of Family Sedge on Anthropogenous Habitats of the Southern Part of Volga Hills 86
- Torgashkova O. N.** Processes of Functioning of Seed Banks of Forest Communities Saratov Volga Region 89

**Ecology**

- Sazhnev A. S.** Ecological and Faunistic Data of Beetles (Insecta: Coleoptera) Costal Area of Floodplain Lakes of Volga River of Engel'ssky District (Saratov Region) 95
- Davidenko O. N., Serova L. A., Nevskiy S. A., Davidenko T. N.** The Vegetation Biocoenotic Potential in «Saratovskiy» Wildlife Sanctuary 100

**Appendices****Personalia**

- Gelashvili D. B., Rozenberg G. S., Shlyakhtin G. V.** To the 100 Anniversary from Birthday Remarkable Ecologist Eugene Odum 105

**Information about the Authors**

113



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

### Главный редактор

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

### Заместитель главного редактора

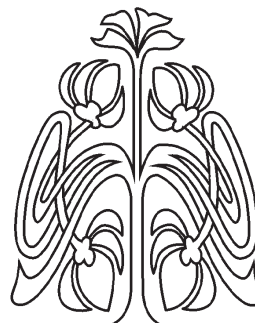
Усанов Дмитрий Александрович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)

### Ответственный секретарь

Клюков Василий Тихонович, доктор филол. наук, профессор (Саратов, Россия)

### Члены редакционной коллегии:

Аврус Анатолий Ихильевич, доктор ист. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Аксеновская Людмила Николаевна, доктор психол. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Аникин Валерий Михайлович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Балаш Ольга Сергеевна, кандидат экон. наук, доцент (Саратов, Россия)  
Бучко Ирина Юрьевна, директор Издательства Саратовского университета (Саратов, Россия)  
Вениг Сергей Борисович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Волкова Елена Николаевна, кандидат геол.-минерал. наук, доцент (Саратов, Россия)  
Голуб Юрий Григорьевич, доктор ист. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Захаров Андрей Михайлович, кандидат физ.-мат. наук, доцент (Саратов, Россия)  
Ивченков Сергей Григорьевич, доктор социол. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Комкова Галина Николаевна, доктор юрид. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Лебедева Ирина Владимировна, директор Зональной научной библиотеки (Саратов, Россия)  
Левин Юрий Иванович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Макаров Владимир Зиновьевич, доктор геогр. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Монахов Сергей Юрьевич, доктор ист. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Орлов Михаил Олегович, доктор филос. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Прозоров Валерий Владимирович, доктор филол. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Проخورов Дмитрий Валентинович, доктор физ.-мат. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Федотова Ольга Васильевна, доктор хим. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Федорова Антонина Гавриловна, кандидат физ.-мат. наук, доцент (Саратов, Россия)  
Черевичко Татьяна Викторовна, доктор экон. наук, профессор (Саратов, Россия)  
Шатилова Алла Валерьевна, кандидат пед. наук, доцент (Саратов, Россия)  
Шляхтин Геннадий Викторович, доктор биол. наук, профессор (Саратов, Россия)



## EDITORIAL BOARD OF THE JOURNAL

### «IZVESTIYA SARATOVSKOGO UNIVERSITETA. NEW SERIES»

**Editor-in-Chief** – Kossovich L. Yu. (Saratov, Russia)

**Deputy Editor-in-Chief** – Usanov D. A. (Saratov, Russia)

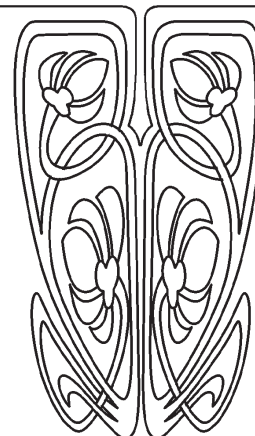
**Executive Secretary** – Klokov V. T. (Saratov, Russia)

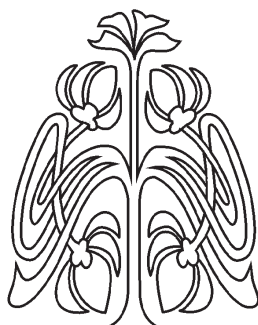
### Members of the Editorial Board:

Avrus A. I. (Saratov, Russia)  
Aksenovskaya L. N. (Saratov, Russia)  
Anikin V. M. (Saratov, Russia)  
Balash O. S. (Saratov, Russia)  
Buchko I. Yu. (Saratov, Russia)  
Venig S. B. (Saratov, Russia)  
Volkova E. N. (Saratov, Russia)  
Golub Yu. G. (Saratov, Russia)  
Zakharov A. M. (Saratov, Russia)  
Ivchenkov S. G. (Saratov, Russia)  
Komkova G. N. (Saratov, Russia)  
Lebedeva I. V. (Saratov, Russia)

Levin Yu. I. (Saratov, Russia)  
Makarov V. Z. (Saratov, Russia)  
Monakhov S. Yu. (Saratov, Russia)  
Orlov M. O. (Saratov, Russia)  
Prozorov V. V. (Saratov, Russia)  
Prokhorov D. V. (Saratov, Russia)  
Fedotova O. V. (Saratov, Russia)  
Fedorova A. G. (Saratov, Russia)  
Cherevichko T. V. (Saratov, Russia)  
Shatilova A. V. (Saratov, Russia)  
Shlyakhtin G. V. (Saratov, Russia)

РЕДАКЦИОННАЯ  
КОЛЛЕГИЯ





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

**Главный редактор**

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

**Заместитель главного редактора**

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

**Ответственный секретарь**

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



**Члены редакционной коллегии:**

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

Болдырев Владимир Александрович, доктор биологических наук, профессор

(Саратов, Россия)

Грибов Лев Александрович, доктор физико-математических наук, профессор, чл.-корр. РАН (Москва, Россия)

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

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

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

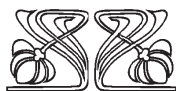
Муштакова Светлана Петровна, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

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

(Тольятти, Россия)

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

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



**РЕДАКЦИОННАЯ  
КОЛЛЕГИЯ**

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

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

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

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

**Members of the Editorial Board:**

Anikin V. V. (Saratov, Russia)

Boldyrev V. A. (Saratov, Russia)

Gribov L. A. (Moscow, Russia)

Kashin A. S. (Saratov, Russia)

Konnova S. A. (Saratov, Russia)

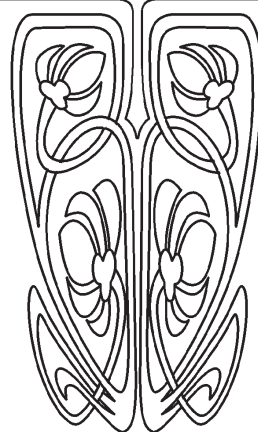
Kuzmina R. I. (Saratov, Russia)

Mushtakova S. P. (Saratov, Russia)

Rozenberg G. S. (Toliatty, Russia)

Chernova R. K. (Saratov, Russia)

Shipovskaya A. B. (Saratov, Russia)





## ХИМИЯ

УДК 543.4

### СТРУКТУРЫ ЯДРО–ОБОЛОЧКА И ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ КАПСУЛЫ С ИММОБИЛИЗОВАННЫМИ КИСЛОТНО-ОСНОВНЫМИ ИНДИКАТОРАМИ

Н. А. Бурмистрова, О. А. Колонтаева, Т. Ю. Русанова,  
О. А. Иноземцева, Д. Е. Суетенков<sup>1</sup>, Д. А. Горин

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

<sup>1</sup>Саратовский государственный медицинский университет  
E-mail: suetenkov@gmail.com

Исследована возможность включения кислотно-основных индикаторов (лакмуса, бромтимолового синего (БТС) и метилового красного (МК)) в структуры «ядро–оболочка», а также в микрокапсулы, сформированные методом полиионной сборки на основе ядер карбоната кальция и гидроксиапатита. Оценено влияние способа иммобилизации индикаторов (сорбция молекул на «ядрах», включение в полиэлектролитные (ПЭ) слои, инкапсулирование в полую ПЭ капсуле) и различных факторов на эффективность связывания. Установлено, что связывание лакмуса осуществляется всеми указанными способами, БТС – при сорбции на «ядрах» в комплексе с катионным ПЭ и при инкапсулировании в полые капсулы, МК – только в полые капсулы в кислой форме. Увеличение времени адсорбции и нанесения ПЭ слоя, а также включение индикаторов в виде комплексов с катионным ПЭ способствует связыванию индикаторов с микрочастицами, а увеличение концентрации ПЭ приводит к агрегации микрочастиц. Полученные микрокапсулы использованы для определения pH в буферных растворах, а также введены в состав зубной пасты в качестве зонда кислотности.

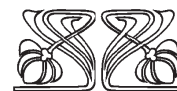
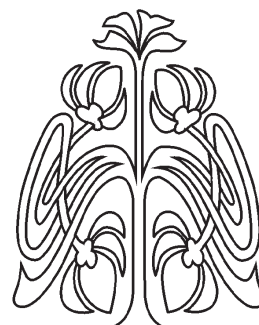
**Ключевые слова:** определение pH, кислотно-основные индикаторы, микрокапсулирование, структуры «ядро–оболочка», полиэлектролитная сборка.

#### Core–shell Structures and Polyelectrolyte Capsules with Immobilized Acid-base Indicators

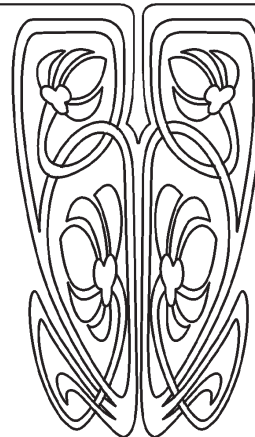
N. A. Burmistrova, O. A. Kolontaeva, T. Yu. Rusanova,  
O. A. Inozemtseva, D. E. Suetenkov, D. A. Gorin

The possibility of incorporation of acid-base indicators (litmus, bromothymol blue (BTB) and methyl red (MR)) inside «core–shell» structures as well as in microcapsules formed by polyelectrolytes self-assembly on the microparticles of calcium carbonate and hydroxyapatite was investigated. Different ways for indicators immobilization (sorption of molecules on cores, the incorporation into polyelectrolytes layers, encapsulation inside the capsule) were performed and efficiency of binding was estimated. It was found that litmus can be encapsulated by all these methods, BTB can be adsorbed on cores as complex with cationic polyelectrolyte or encapsulated in capsules. The encapsulation is the one way to form of MK-containing microparticles. The increasing of the adsorption time and time for the coating of electrostatic layer, previous binding of indicators to complex with cationic polyelectrolyte promotes binding of indicators to the microparticles, the increasing of polyelectrolyte concentration leads to microparticles aggregation. Prepared microcapsules were used to determine the pH in buffer solutions and included in toothpaste as acidity probe.

**Key words:** pH control, acid-base indicators, microencapsulation, core–shell structure, polyelectrolyte assembly.



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





Капсулирование веществ различной природы находит все более широкое применение и имеет большое технологическое значение в ряде областей науки и техники. Наибольший интерес отмечается в области капсулирования активных ингредиентов, а именно лекарств, вакцин, антител, гормонов, пестицидов [1–4]. В то же время определенный интерес представляет капсулирование в микрочастицы фотометрических и люминесцентных органических реагентов, что открывает возможность их применения в новых форматах анализа. Одной из задач в этой области является разработка простых и доступных методов для определения кислотности среды.

Определение pH является исключительно важным как в ряде технологических процессов, так и в клиническом анализе (крови, других биологических жидкостей), контроле качества продуктов питания (молока, мяса и др.), водопроводной воды, объектов окружающей среды (кислотность дождей, промышленных сливов, природных водоемов). Наиболее широко распространенный метод измерения pH с помощью стеклянного электрода, наряду с неоспоримыми достоинствами (линейность отклика в широком диапазоне pH, высокая чувствительность, измерение активности, а не концентрации), имеет ряд недостатков, препятствующих его использованию в ряде приложений. Сигнал стеклянного электрода чувствителен к электромагнитным полям, определённые сложности возникают при необходимости дистанционного контроля, миниатюризации, использования в сильноокислых и щелочных средах, кроме того, существует проблема влияния ионов металлов, белков и  $H_2S$ . Применение электродов для сканирования пространственного распределения pH (2D-измерения) сложно в исполнении и лимитировано в плане разрешения сигнала. Также следует отметить наличие риска «электрического шока» при *in vivo* измерениях. Для решения этой задачи перспективным является применение оптических сенсорных устройств, включающих фотометрические и флуоресцирующие кислотно-основные индикаторы.

В зависимости от поставленной задачи определение pH оптическими сенсорами может быть реализовано в различных форматах. Оптические волноводы позволяют локально детектировать сигнал с высоким разрешением, они востребованы при анализе объектов окружающей среды, в том числе дистанционном. Реализация в формате сенсорного микропланшета открывает возможность одновременного скрининга большого числа образцов. При необходимости детектирования

пространственного распределения pH в образце используют планарные сенсорные мембраны или прямое введение индикатора в образец с последующим детектированием сигнала с помощью сканирующей микроскопии. Формирование сенсорных слоев осуществляется путем прямого включения индикатора в матрицу или предварительным введением его в микро- или наночастицы, с последующим включением в матрицу [5–7].

Наиболее распространенными индикаторами при создании pH сенсоров являются феноловый красный, бромтимоловый синий (БТС), производные флуоресцеина, гидроксикумарины и др. [8–11].

Выбор кислотно-основных индикаторов в каждом конкретном случае определяется интервалом определяемых значений pH и осуществляется на основе значения  $pK_a$  индикатора и его оптических характеристик (коэффициентов молярного светопоглощения форм индикатора, положения длин волн максимумов поглощения и пр.). Микроокружение сенсорного слоя или микрочастиц может смещать значение  $pK_a$  индикаторов на несколько единиц и оказывать существенное влияние на свойства сенсорного устройства. Время отклика и возможность регенерации сенсора определяется скоростью диффузии и гидрофобностью матрицы.

Включение кислотно-основных индикаторов в микрокапсулы может быть также полезно для оценки микроокружения включаемых ингредиентов и его влияния на их протолитические свойства.

Таким образом, изучение условий включения кислотно-основных индикаторов в микрочастицы и изучение их свойств представляет существенный научный и практический интерес. В данной работе изучена возможность включения широко распространенных в аналитической практике лакмуса, бромтимолового синего (БТС) и метилового красного (МК) в структуру ядро–оболочка и микрокапсулы, изучено влияние различных факторов на процесс получения микроструктур.

#### Экспериментальная часть

В работе использованы индикаторы квалификации не ниже ч.д.а. Готовили насыщенный раствор лакмуса (водный), водно-спиртовые растворы бромтимолового синего (0,5–5,0 мг/мл, 20 об. %) и метилового красного (1 мг/мл, 60 об. %).

В качестве ядер для формирования структур ядро–оболочка использовали микрочастицы карбоната кальция и гидроксиапатита. Микро-



частицы синтезировали по известной методике [12–13]. Контроль размера и структуры частиц проводили с использованием сканирующего электронного микроскопа (MIRA II LMU Instrument) и оптического микроскопа (зондовая нанолaborатория Ntegra Spectra). Стабильность системы и способность частиц к агрегации оценивали путем измерения дзета-потенциала методом электрофоретического рассеяния света (анализатор Zetasizer Nano zs90 Malvern).

Нанесение полиэлектролитных (ПЭ) оболочек осуществляли методом полиионной сборки [14–16], путем последовательного нанесения катионных гидрохлорида полиаллиламина (ПАА, 58 кДа) или хитозана (37 кДа) и анионного полистиролсульфоната натрия (ПСС, 70 кДа). Растворы ПЭ (1 и 3 мг/мл) готовили растворением навески в водном растворе NaCl (0,5M).

*Формирование полиэлектролитных слоев на поверхности «ядер».* К навеске микрочастиц (0,03 г) карбоната кальция или гидроксиапатита добавляли раствор катионного ПЭ (1 мл). Суспензию перемешивали в течение 15 мин с помощью минишейкера при температуре 28°C, центрифугировали (2000 об/мин, 30 с) и отбирали супернатант. Полученные частицы трехкратно промывали водой и центрифугировали при 2000 об/мин. Затем при тех же условиях наносили раствор анионного ПЭ. Нанесение противоположно заряженных макромолекул на коллоидные частицы проводили 10 раз, получая оболочку из 5 бислоев (верхний слой ПСС). Для предотвращения агрегации частиц, которая наблюдается во времени, при повышении концентрации ПЭ и температуры, суспензию помещали в ультразвуковую ванну (35 кГц, 3 мин).

*Получение полых полиэлектролитных капсул.* Ядра, покрытые ПЭ оболочкой, погружали в раствор динатриевой соли ЭДТА (0,2 M, pH = 6,5) на 15 мин в минишейкере, что приводило к растворению «ядра» за счёт образования устойчивого комплекса с ионами кальция. Процедуру повторяли три раза, полученные капсулы трижды промывали водой, осаждение проводили центрифугированием со скоростью 2000 об/мин 30 с.

Для включения индикаторов в полые полиэлектролитные капсулы их выдерживали в растворе красителя (1 ч) и затем промывали водой. На примере БТС также изучена возможность предварительной замены воды на этиловый спирт. С этой целью полые капсулы поочередно помещали в спирт и раствор БТС (5мг/мл, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH 50 об. %), осаждение микрочастиц проводили центрифугированием (3000 об/мин, 30 с).

*Обработка изображений.* При изучении возможности использования микрочастиц для измерения pH небольшие порции микрочастиц помещали в лунки микропланшета и добавляли 50 мкл фосфатных буферных растворов в диапазоне pH 4,0–8. Фотографические снимки обрабатывали в программе «Adobe Photoshop CS3» (версия 10). Усредненный цветовой параметр пятен R (меню «Фильтр» → «Размытие» → «Среднее») получали с помощью панели «Color Picker».

### Результаты и их обсуждение

Выбор исследуемых кислотно-основных индикаторов обусловлен отсутствием токсичного действия на живые организмы и значениями pK<sub>a</sub> в области физиологических значений pH (интервалы перехода для лакмуса 4,5–8,3 (красный – синий), БТС 6,0–7,6 (желтый – синий), МК 4,2–6,2 (красный – желтый)), что позволяет использовать их при анализе объектов биологической природы. Кроме того, для них характерны контрастные переходы окраски и высокие значения молярных коэффициентов светопоглощения.

Выбор микрочастиц карбоната кальция и гидроксиапатита в качестве носителей при формировании структур «ядро-оболочка» обусловлен доступностью и простотой их получения, возможностью формирования ПЭ оболочки и необходимым в ряде случаев растворением «ядер» в мягких условиях. Установлено, что полученные по стандартной методике [12–13] микрочастицы карбоната кальция имеют сферическую форму и размер 3–6 мкм (рис. 1, а). Пористая структура частиц обусловлена специфическим процессом их роста. Сферические микрочастицы гидроксиапатита (рис. 1, б) имеют игольчатую структуру и размер 3,5 мкм. Следует отметить агрегацию микрочастиц гидроксиапатита в водном растворе, которая, однако, не сопровождается процессом перекристаллизации, характерного для «ядер» карбоната кальция. Переход в водных растворах карбоната кальция из формы ватерита в термодинамически более устойчивый кальцит препятствует использованию его в аналитических целях [17].

Нами изучена возможность включения исследуемых кислотно-основных индикаторов в структуры «ядро-оболочка» несколькими способами: 1) адсорбция молекул красителя на «ядрах»; 2) включение молекул красителя в состав ПЭ оболочки; 3) включение красителя в полую ПЭ капсулу (в т.ч. путем замены растворителя). Также апробирован метод включения индикаторов на стадии формирования «ядер»

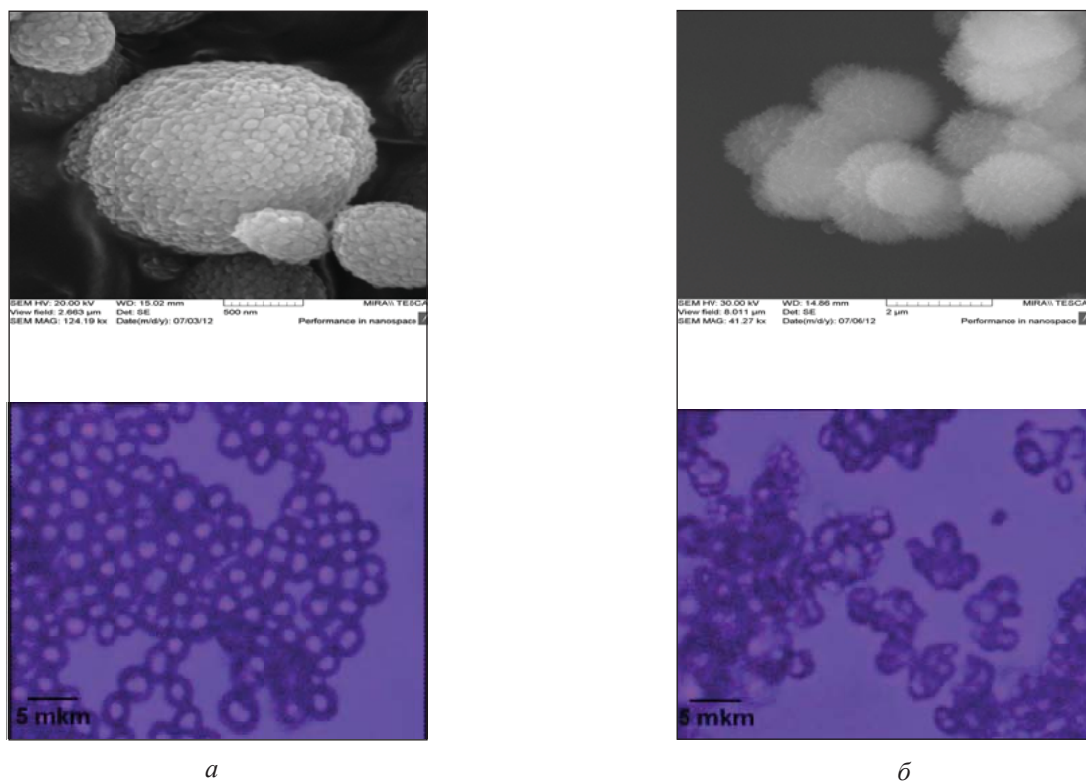


Рис. 1. Фотографии: *а* – микрочастиц карбоната; *б* – гидроксиапатита кальция

карбоната кальция, который не дал положительных результатов, так как наблюдалось сильное вымывание всех исследуемых индикаторов.

Прочность связывания индикаторов с микрочастицами контролировали визуально по интенсивности их окраски, сохранению ее после промывки и степени окрашивания раствора. Количественную оценку эффективности адсорбции рассчитывали на основе спектров поглощения растворов индикатора до и после помещения микрочастиц в них.

*Адсорбция индикаторов на ядрах.* «Ядра» карбоната кальция и гидроксиапатита имеют пористую структуру, и краситель может проникать в поры и адсорбироваться на их стенках. Нами изучено влияние природы индикатора, его концентрации, времени адсорбции, а также предварительного включения индикатора в состав комплекса с катионным ПЭ на эффективность адсорбции индикатора на «ядрах».

Установлено, что адсорбция МК на «ядрах» не наблюдается, БТС легко вымывается с поверхности частиц, адсорбция лакмуса приводит к образованию слабо окрашенных частиц. Процесс адсорбции индикаторов протекает в большей степени на «ядрах» карбоната кальция.

Причиной отсутствия или низкой адсорбции индикаторов на «ядрах» может являться электро-

статическое отталкивание, обусловленное слабощелочной реакцией среды в микроокружении частиц. Это связано с гидролизом карбоната кальция и в меньшей степени гидроксиапатита, который приводит к смещению кислотно-основного равновесия красителей в область основных форм. Об этом свидетельствует изменение окраски индикаторов на соответствующую основную форму. В случае гидроксиапатита негативным фактором, препятствующим адсорбции индикаторов, может быть агрегация микрочастиц.

Увеличение времени нанесения индикатора (до 24 ч) способствует большей эффективности адсорбции, однако приводит к нежелательной перекристаллизации ядер. Предотвратить перекристаллизацию частиц удастся при нанесении индикаторов (лакмуса и БТС) в виде комплекса с катионным полиэлектролитом. Адсорбция комплекса БТС с ПАА позволяет получить слабо окрашенные частицы (0,18 мг БТС/1 г микрочастиц карбоната кальция), устойчивые при дальнейшем нанесении ПЭ слоев. В случае лакмуса добавление в раствор ПАА существенно не увеличивает адсорбцию индикатора на ядрах. Важным фактором при использовании аналитических систем для исследования биологических объектов является их биосовместимость. В





связи с этим в качестве катионного ПЭ также апробировали биосовместимый хитозан. На примере лакмуса установлено, что добавление в раствор хитозана также способствует адсорбции индикатора на ядрах и предотвращает процесс перекристаллизации ядер.

Для дальнейшего использования микро-частиц с адсорбированными индикаторами целесообразно нанесение на них ПЭ оболочки,

что позволяет предотвратить нежелательное вымывание индикатора с поверхности «ядер». Показано (рис. 2), что нанесение ПЭ в комплексе с индикаторами (БТС и лакмус) приводит к снижению  $\zeta$ -потенциала первого слоя (по сравнению с нанесением ПЭ без индикатора), однако полной компенсации заряда не наблюдается, что позволяет наносить последующие слои ПЭ оболочки.

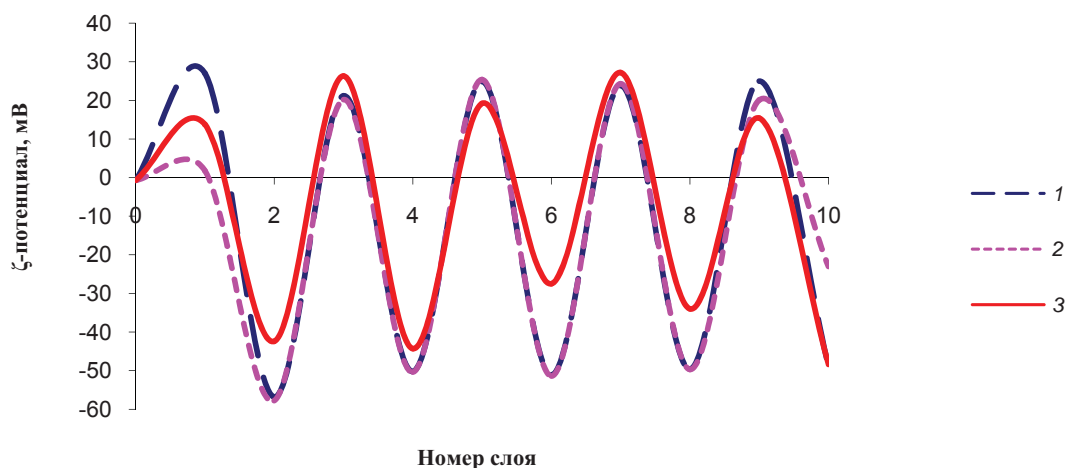


Рис. 2. Зависимость  $\zeta$ -потенциала микрочастиц карбоната кальция от числа слоев ПЭ (ПАА/ПСС)<sub>5</sub> (1) и после предварительной адсорбции на ядрах комплекса лакмуса (2) и БТС (3) с ПЭ (ПАА-индикатор/ПСС/(ПАА/ПСС)<sub>4</sub>)

*Включение индикаторов в состав полиэлектролитной оболочки.* Одним из подходов модификации ПЭ оболочки является включение в качестве одного из слоев различных веществ, в том числе и низкомолекулярных. Существование индикаторов в ионизированной форме позволяет использовать этот подход. Нами изучено влияние различных факторов (природы, формы и концентрации индикатора, концентрации ПЭ и природы катионного ПЭ, а также возможность включения индикаторов в несколько слоев) на эффективность связывания индикаторов с ПЭ оболочкой. Установлено, что варьирование условий не позволяет осуществить включение МК в микрочастицы. Включение БТС в состав ПЭ оболочки возможно в виде его комплекса с ПАА, однако окрашивание раствора свидетельствует о частичном вымывании индикатора.

Показано, что включение лакмуса вместо слоя анионного ПЭ независимо от положения приводит к более прочному связыванию по сравнению с включением вместо катионного полиэлектролита. К существенному увеличению интенсивности окраски микрочастиц приводит нанесение лакмуса несколькими отрицательно заряженными слоями. Включение лакмуса в

ПЭ слой оболочки практически не влияет на значение  $\zeta$ -потенциала и, следовательно, не препятствует нанесению последующих ПЭ слоев (рис. 3).

Исследование влияния природы катионного ПЭ показало (рис. 4), что при замене ПАА на хитозан наблюдается незначительное снижение  $\zeta$ -потенциала и также обеспечивается возможность включения индикатора.

*Включение индикаторов в полые полиэлектролитные капсулы.* Получение полых полиэлектролитных капсул проводили путём растворения «ядер» посредством комплексообразования ионов кальция с ЭДТА.

Установлено, что включение индикаторов в полые микрокапсулы является наиболее эффективным методом. При этом капсулирование БТС и лакмуса возможно как в кислотных, так и основных формах. Так, масса инкапсулированного БТС в кислой и основной формах составила соответственно 28,0 и 24,3 мг/1 г микрочастиц карбоната кальция. Инкапсулирование МК возможно только в кислой форме. Таким образом, приведенные факты свидетельствуют о большей эффективности капсулирования индикаторов в кислой форме.

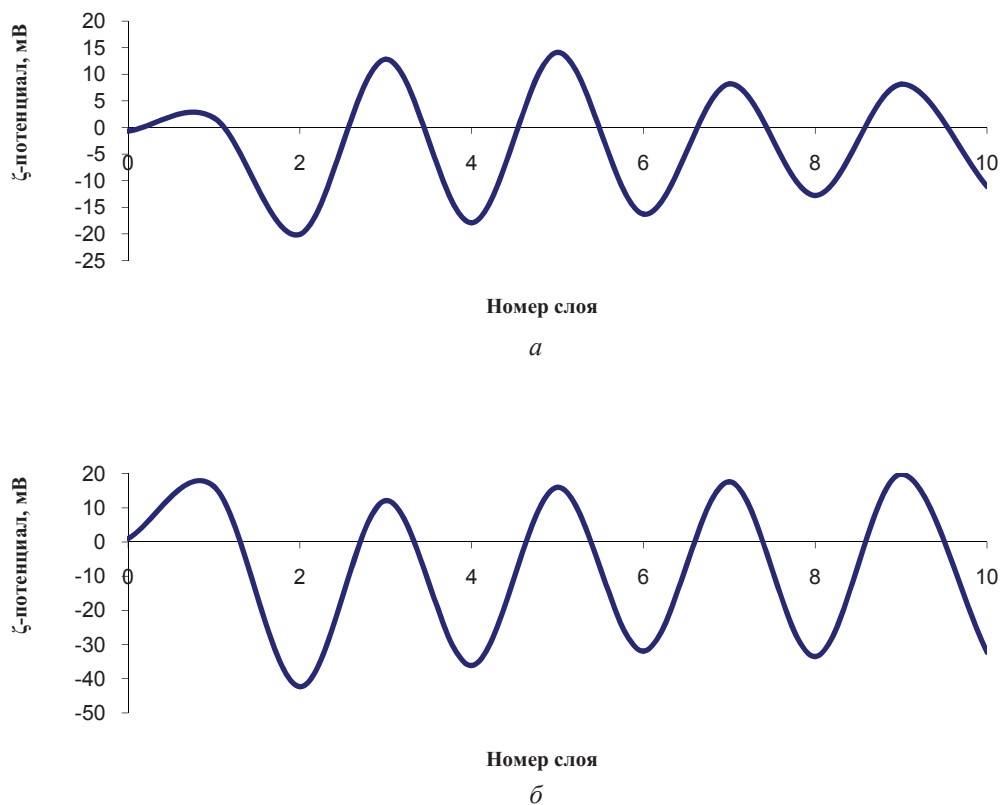


Рис. 3. Зависимость  $\zeta$ -потенциала микрочастиц от числа слоев при включении лакмуса в полиэлектролитные слои ((ПАА/лакмус)<sub>4</sub>/ПАА/ПСС) на «ядрах» карбоната кальция (а) и гидроксиапатита (б)

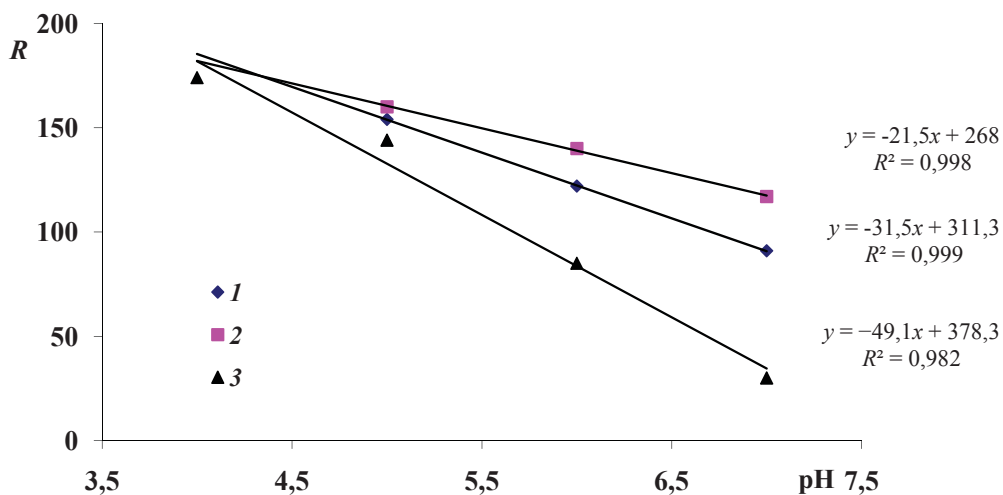


Рис. 4. Зависимости параметра цветности  $R$  от кислотности среды при включении лакмуса в ПЭ слои ((ПАА/лакмус)<sub>4</sub>/ПАА/ПСС) на «ядрах» карбоната кальция (1) и в полые микрокапсулы ((ПАА/лакмус)<sub>3</sub>) (2) и при добавлении микрочастиц ((ПАА/лакмус)<sub>4</sub>/ПАА/ПСС) в состав зубной пасты (3)

Влияние концентрации ПЭ на прочность связывания индикатора с ПЭ оболочкой изучено на примере лакмуса. Показано, что повышение концентрации ПЭ способствует лучшему связыванию красителя, однако приводит к агрегации

микрокапсул, что можно предотвратить путем применения ультразвука.

*Аналитическое применение микрочастиц с иммобилизованными индикаторами.* С целью изучения возможности использования получен-



ных микрочастиц для измерения рН нами исследовано их поведение в фосфатных буферных растворах. Предварительные исследования показали, что наиболее устойчивыми к вымыванию и чувствительными к изменению рН являются микрокапсулы, содержащие лакмус.

Микрокапсулы БТС в основной форме и МК в кислой форме не устойчивы к вымыванию и не могут быть использованы в аналитических целях. Изменение окраски микрочастиц с БТС, включенным в кислой форме, наблюдается при значениях рН 4–9,5, т.е. в более щелочной среде по сравнению с водным раствором (рН 6–7,6).

Микрочастицы с иммобилизованным лакмусом изменяют окраску от розовой до темно-синей в диапазоне рН 4–7. При рН < 4 происходит частичное растворение микрокапсул. На рис. 4 представлена зависимость параметра цветности G от кислотности среды для лакмуса, включенного как в ПЭ слои структуры «ядро-оболочка», так и в полые микрокапсулы. Цветовой параметр G выбран в качестве оптимального аналитического сигнала, как показавший наибольшие чувствительность к изменению среды и коэффициент корреляции.

Одной из возможных областей применения микрокапсул, содержащих кислотно-основные индикаторы, является их включение в состав зубных паст. Наряду с выполнением чистящих и лечебных задач, зубные пасты могут способствовать выявлению проблемных зон на поверхности зубов. Снижение рН ниже 6,2 приводит к очаговой деминерализации эмали зубов с появлением эрозий твердых тканей и образованием в них полостей — кариеса [18]. Возможность использования изученных в работе кислотно-основных индикаторов для этих целей основана на отсутствии токсичных свойств по отношению к живым организмам и изменении окраски микрочастиц в области физиологических значений рН.

Устойчивые к вымыванию и интенсивно окрашенные микрочастицы, полученные включением лакмуса в несколько слоев полиэлектролитной оболочки, вносили в основу зубной пасты различного состава. В состав образца 1 входит карбонат кальция, вторая основа (образец 2) содержит SiO<sub>2</sub>, образец 3 не содержит абразива. Концентрация индикатора в основах паст с учетом рассчитанной загрузки микрочастиц составляла ~ 1,5 мг лакмуса/1 г пасты. Установлено, что синяя окраска образца 1 не изменяется при варьировании рН буферных растворов. Это свидетельствует о существовании индикатора в образце 1 в основной форме, причиной чего является гидролиз абразивных частиц карбоната

кальция. Окраска образцов 2 и 3 зависит от рН буферного раствора и изменяется как красная-розовая-фиолетовая-синяя при рН 4–5–6–7 соответственно (см. рис. 4).

Таким образом, изучена возможность включения кислотно-основных индикаторов различными методами в структуру «ядро-оболочка». Эффективными методами являются включение молекул красителя в состав оболочки полиэлектролитной капсулы и в полую полиэлектролитную капсулу. Наилучшему связыванию индикаторов с поверхностью микрочастиц способствует их включение в кислой форме. Показана возможность использования полученных микрочастиц с иммобилизованным лакмусом для определения кислотности среды, в том числе в условиях включения в зубную пасту.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 12-03-92699-ИНД\_а).*

#### Список литературы

1. Gao C. Y., Donath E., Möhwald H., Shen J. C. Spontaneous deposition of water-soluble substances into microcapsules : phenomenon, mechanism and application // *Angew Chem. Intern. Ed.* 2002. Vol. 41. P. 3789–3793.
2. Gao C. Y., Liu X. Y., Shen J. C., Möhwald H. Spontaneous deposition of horseradish peroxidase into polyelectrolyte multilayer capsules to improve its activity and stability // *Chem. Commun.* 2002. Vol. 17. P. 1928–1929.
3. Liu X. Y., Gao C. Y., Shen J. C., Möhwald H. Multilayer microcapsules as anti-cancer drug delivery vehicle deposition, sustained release, and in vitro bioactivity // *Macromol. Bios.* 2005. Vol. 5. P. 1209–1219.
4. Mao Z. W., Ma L., Gao C. Y., Shen J. C. Preformed microcapsules for loading and sustained release of ciprofloxacin hydrochloride // *J. Control. Release.* 2005. Vol. 104. P. 193–202.
5. Hanson K. M., Behne M. J., Barry N. P. Two-photon fluorescence lifetime imaging of the skin stratum corneum pH gradient // *Biophys. J.* 2002. Vol. 83, № 3. P. 1682–1690.
6. Arain S., John G. T., Krause C., Gerlach J., Wolfbeis O. S., Klimant I. Characterization of microtiterplates with integrated optical sensors for oxygen and pH, and their applications to enzyme activity screening, respirometry, and toxicological assays // *Sensors and actuators b-chemical.* 2006. Vol. 113, № 2. P. 639–648.
7. Arain S., Ley B. H., Benz K. Online Monitoring of Oxygen and pH during Cell Cultivation in Multiwell Plates // *Tissue engineering. Part A.* 2009. Vol. 15, № 3. P. 728–729.
8. Lobnik A., Majcen N., Niederreiter K., Uray G. Optical pH sensor based on the absorption of antenna generated europium luminescence by bromothymolblue in a sol-gel membrane // *Sensors and actuators b-chemical.* 2001. Vol. 74, № 1–3. P. 200–206.



- Liu Z. H., Liu J. F., Chen T. L. Phenol red immobilized PVA membrane for an optical pH sensor with two determination ranges and long-term stability // *Sensors and actuators b-chemical*. 2005. Vol. 107, № 1. P. 311–316.
- Weidgans B. M., Krause C., Klimant I., Wolfbeis O. S. Fluorescent pH sensors with negligible sensitivity to ionic strength // *Analyst*. 2004. Vol. 129, № 7. P. 645–650.
- Vasylevska A. S., Karasyov A. A., Borisov S. M., Krause C. Novel coumarin-based fluorescent pH indicators, probes and membranes covering a broad pH range // *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2007. Vol. 387, № 6. P. 2131–2141.
- Volodkin D. V., Petrov A. I., Prevot M., Sukhorukov G. B. Matrix polyelectrolyte microcapsules : New system for macromolecule encapsulation // *Langmuir*. 2004. Vol. 20. P. 3398–3406.
- Ma M. Y., Zhu Y. J., Li L., Cao S. W. Nanostructured porous hollow ellipsoidal capsules of hydroxyapatite and calcium silicate: preparation and application in drug delivery // *J. Mater. Chem*. 2008. Vol. 18. P. 2722–2727.
- Ukhorukov G. B., Donath E., Lichtenfeld H., Knippel E., Knippel M., Budde A., Mohwald H. Layer-by-Layer self assembly of polyelectrolytes on colloidal particles // *Colloid. Surf. Physicochem. Ang. Aspects*. 1998. Vol. 137, № 1–3. P. 253–266.
- Donath E., Sukhorukov G. B., Mohwald H. Submicrometric and micrometric polyelectrolyte capsules // *Nachrichten Aus Chemie Technik Und Laboratorium*. 1999. Vol. 47, № 4. P. 400–405.
- Sukhorukov G. B., Donath E., Davis S., Lichtenfeld H., Caruso F., Popov V. I., Mohwald H. Stepwise polyelectrolyte assembly on particles surface: a novel approach to colloid design // *Polym. Adv. Technol*. 1998. Vol. 9, № 10–11. P. 759–767.
- Johnston J. The several forms of calcium carbonate // *Amer. J. Science*. 1916. Vol. 4, № 41. P. 473–512.
- Новикова В. П., Шабалов А. М. Состояние полости рта у пациентов с гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью // *Гастроэнтерология Санкт-Петербурга*. 2009. № 1. С. 25–28.

УДК 543.424.2

## ЗОЛЬ-ГЕЛЬ МАТЕРИАЛЫ С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ ГИГАНТСКОГО КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЙЯНИЯ СВЕТА

Т. Ю. Русанова, А. В. Маркин, Н. С. Юрова,  
Н. П. Бесараб, Д. А. Горин

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

Получены и исследованы новые золь-гель (З-Г) материалы на основе тетраэтоксисилана (ТЭОС), содержащие наночастицы серебра. З-Г синтез проводили одновременно с восстановлением ионов серебра (I) с целью стабилизации образующихся наночастиц металла силикатной «сеткой» геля. Изучено влияние концентрации катионов серебра, а также природы и концентрации восстановителя на свойства образующихся материалов. З-Г процесс изучали методами динамического рассеяния света и вискозиметрии. Полученные материалы исследовали методами конфокальной спектроскопии комбинационного рассеяния света, а также спектроскопии диффузного отражения света. Показано, что при адсорбции на З-Г материалах модельного соединения – родамина 6Ж (Р6Ж) – происходит усиление КР-сигнала в  $10^4$  раз. На примере Р6Ж и пирена оценена возможность применения полученных композитов для одновременного сорбционного концентрирования анализируемых веществ из растворов и их определения непосредственно в твердой фазе методом гигантского комбинационного рассеяния света (ГКР).

**Ключевые слова:** золь-гель технология, наночастицы серебра, спектроскопия комбинационного рассеяния.



### Sol-gel Materials with Silver Nanoparticles for Simultaneous Concentration and Detection of Substances by SERS

T. Yu. Rusanova, A. V. Markin, N. S. Yurova,  
N. P. Besarab, D. A. Gorin

The research describes new sol-gel (S-G) materials containing silver nanoparticles and also their application as sorbents for extraction and platforms for surface-enhanced Raman scattering (SERS). The sol-gel synthesis using tetraethoxysilane as a precursor was performed simultaneously with reduction of silver ions (I), the formation and stabilization of the metal nanoparticles directly to the S-G bulk. The article studies influence of such factors as the nature and concentration of the reducing agent, the concentration of silver ions on the characteristics and parameters of the produced material (gelling time, diffuse reflectance spectra, gain of Raman signal). The process of S-G synthesis was studied by means of dynamic light scattering and viscosimetry. The obtained materials were examined by confocal Raman spectroscopy and UV-visible diffuse reflectance spectroscopy. The model compound



(Rhodamine 6G) adsorbed on the S-G structures has a significant enhancement of the Raman signal ( $10^4$ ). The authors demonstrated possibility of application of the obtained samples both for simultaneous solid phase extraction of analytes (Rhodamine 6G and pyrene) from solution (extraction) and their detection in the solid sorbent by SERS. **Key words:** sol-gel technology, argentums nanoparticles, Raman spectroscopy.

## Введение

Золь-гель (З-Г) технология является перспективным методом для получения наноразмерных композитных материалов, например просветляющих покрытий [1], неподвижных фаз для хроматографии [2], чувствительных покрытий сенсоров [3, 4], сорбентов для твердофазной экстракции [5] и т.п. З-Г материалы сочетают в себе такие преимущества, как высокоразвитая поверхность, способность эффективно сорбировать химические соединения, химическая стойкость и физическая прочность. Материалы на основе З-Г, содержащие наночастицы (НЧ) металлов, также используют в химическом анализе в качестве платформ для гигантского комбинационного рассеяния света (ГКР) [6–8].

ГКР возникает при адсорбции химических соединений на наноструктурированных поверхностях металлов и позволяет значительно увеличить чувствительность определения. Предел обнаружения может достигать уровня единичных молекул [9]. Интенсивность сигнала ГКР сопоставима с интенсивностью сигнала флуоресценции, но позволяет не только количественно определять содержание веществ, но и идентифицировать их с помощью анализа полученных спектров КР. Таким образом, благодаря своим особым свойствам эффект ГКР света интенсивно используется для решения задач аналитической химии, прежде всего, для идентификации биологически активных веществ [10]. Для дальнейшего практического применения перспективными являются системы, в которых детектирование сигнала ГКР сочетается с методами разделения и концентрирования, например, газовой хроматографией [11], ТСХ [12, 13], ВЭЖХ [14, 15], капиллярным электрофорезом [16].

В указанных выше работах [6–8], а также в [17–19] авторы показали возможность применения З-Г материалов для одновременного разделения и определения анализируемых веществ. В качестве объектов исследования чаще всего выступают вещества, имеющие интенсивные спектры КР (например, тиолы [20], ароматические соединения [8]) либо обладающие биологической активностью и встречающиеся в природе [19, 21], в том числе являющиеся экотоксикантами [20, 22,

23]. В работе [22] реализован достаточно оригинальный способ приготовления ГКР платформ, основанный на модифицировании З-Г пленок каликсареном и осуществлении супрамолекулярного связывания аналита. В исследовании [23] ГКР-детектирование пестицидов осуществляется с использованием капилляра, заполненного З-Г материалом с НЧ серебра после предварительной твердофазной экстракции и элюирования.

Однако отсутствуют работы, в которых одновременно используют способность З-Г материалов к сорбции веществ и к возможности выступать платформами для сигнала ГКР. Поэтому в данной работе нами предпринята попытка совмещения обеих функций З-Г материалов как платформ для ГКР и как сорбентов для концентрирования. Для этого получены З-Г материалы с использованием тетраэтоксисилана (ТЭОС) в качестве прекурсора, содержащие НЧ серебра, изучены процессы, протекающие при их формировании, и оценена возможность их использования для одновременного концентрирования и определения веществ методом ГКР.

## Экспериментальная часть

### Реагенты и материалы

В работе использовали следующие реагенты: нитрат серебра ( $\text{AgNO}_3$ , ч.д.а.), водный раствор аммиака ( $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , х.ч.), ТЭОС ( $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_4\text{Si}$ , осч.), этиловый спирт ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ , 96%), родамин 6Ж (Р6Ж, ч.д.а.), натрий азотнокислый ( $\text{NaNO}_3$ , ч.д.а.), раствор формальдегида (40%, формалин), аскорбиновая кислота ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ , ч.д.а.), гидразин солянокислый ( $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot 2\text{HCl}$ , ч.д.а.) (0.5 М раствор), вода бидистиллированная. Рабочие растворы нитрата серебра, натрия азотнокислого, аскорбиновой кислоты, Р6Ж и гидразина солянокислого готовили растворением навески сухого вещества в бидистиллированной воде.

### Приготовление золь-гель материалов с НЧ серебра

Для получения З-Г материалов с иммобилизованными НЧ серебра за основу взят метод, описанный в работе [8]. Методика включала в себя следующие шаги: 1) готовили водный раствор аммиаката серебра путем добавления 1 мл водного раствора аммиака (28%) к 5 мл раствора нитрата серебра различной концентрации (вначале выпадал осадок оксида серебра, который затем растворялся в избытке аммиака); 2) 1 мл раствора аммиаката серебра добавляли к 10 мл раствора ТЭОС в этиловом спирте (1:2, об.), прибавляли восстановитель и тщательно перемешивали. В качестве восстановителей серебра применяли: аскорбиновую кислоту, формалин



и водный раствор гидразина солянокислого. Для приготовления контрольных образцов нитрат серебра заменяли нитратом натрия, не меняя остальных условий методики. Приготовленные порошки высушивали при комнатной температуре в течение 3 суток и измельчали в фарфоровой ступе до получения однородных порошков.

#### **Кинетические измерения вязкости**

Измерение вязкости в процессе гелеобразования проводили на вискозиметре SV-10 (A&D, Япония). Сразу после смешивания всех компонентов 10 мл исследуемого образца помещали в специальную кювету, погружали в него лопасти вискозиметра и термодатчик и проводили измерение до застывания геля.

#### **Регистрация спектров ГКР**

Регистрацию спектров ГКР проводили с использованием зондовой нанолаборатории Интегра Спектра (НТ-МДТ, г. Зеленоград, Россия) со встроенным конфокальным микроскопом (объектив 100x/0.9 NA, Olympus, латеральное разрешение ~200 нм, аксиальное ~1,5 мкм) и спектрометром КР света (Solar). Использовали детектирующее устройство на основе CCD камеры (Andore) с температурой охлаждения до -55 °С. Мощность источника возбуждения (He-Ne лазер 632.8 нм, 5 мВт) регулировали нейтральными фильтрами спектрометра до единиц мкВт. Время накопления сигнала от 1 до 60 с. Дифракционная решетка спектрометра – 600 шт/мм, разрешающая способность – 3 см<sup>-1</sup>. Для измерений брали 20 мг порошка, промывали 3 раза 2 мл деионизованной воды, центрифугировали и сушили. Затем образец помещали на покровное стекло (толщиной 170 мкм) и проводили измерения ГКР.

#### **Проведение твердофазной экстракции**

Навеску 3-Г порошка (40 мг) помещали в колонку для твердофазной экстракции объемом 1 мл (Bond Elut) между 2 фритами (Sint-Katelijne-Waver, Belgium) и промывали 10 мл бидистиллированной воды для удаления остатков продуктов реакции (избыток аммиака, гидразина или непрореагировавшего нитрата). Далее пропускали исследуемый раствор, варьируя его концентрацию и объем, после этого порошок извлекали из колонки и проводили измерение спектров ГКР (рис. 1). Для оценки степени извлечения, а также контроля эффективности промывки 3-Г сорбента, регистрировали спектры поглощения растворов до и после колонки в УФ и видимом диапазонах или спектры флуоресценции.

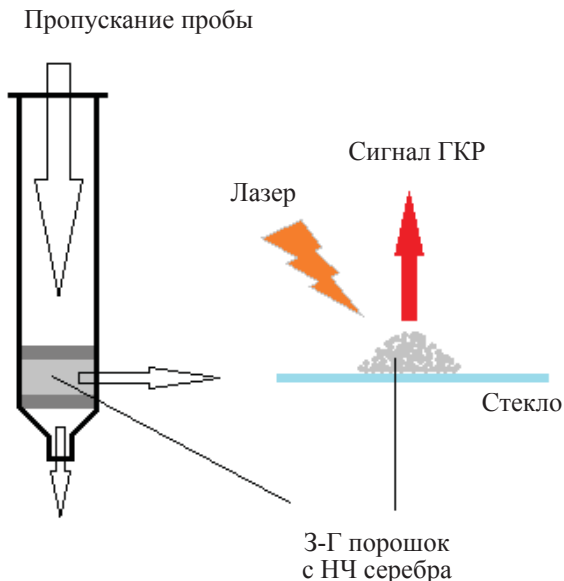


Рис. 1. Схема твердофазной экстракции и ГКР-детектирования

#### **Результаты и их обсуждение**

##### **Синтез 3-Г материалов и изучение процесса гелеобразования**

Во взятой за основу методике синтеза 3-Г материалов с НЧ серебра [11] в качестве прекурсора использован тетраметоксиорганосиликат (ТМОС) и, соответственно, в качестве растворителя токсичный метиловый спирт. Нами осуществлена замена ТМОС на ТЭОС, и в качестве растворителя использован этиловый спирт. Кроме того, исследовано влияние таких параметров, как природа восстановителя и его концентрация, количество и концентрация добавляемого раствора серебра, объемы золь-гель смеси на протекание 3-Г процесса и свойства получаемых материалов.

Необходимо отметить, что в выбранной методике гидролиз алкоголятов кремния катализируется основанием и протекает гораздо медленнее, чем кислотно-катализируемый гидролиз при эквивалентной концентрации катализатора, однако реакция проходит более полно и необратимо, что позволяет получить более однородные и стабильные образцы.

При варьировании природы используемого восстановителя установлено, что лучшим восстановителем является водный раствор гидразина солянокислого. При использовании аскорбиновой кислоты образование частиц серебра происходит слишком быстро (за несколько секунд) и процесс гелеобразования не успевает за ростом частиц серебра, которые агрегируют и оседают, распределяясь в образующемся геле неравномерно. В случае формалина процесс восстановления



происходит наоборот слишком медленно, и НЧ серебра не успевают вырасти в уже сформированной матрице геля. Важной особенностью используемой методики синтеза является формирование и стабилизация НЧ серебра непосредственно в объеме 3-Г смеси, что позволяет отказаться от использования стабилизаторов для НЧ и, тем самым, увеличить соотношение сигнал/шум при регистрации спектров ГКР. По этой же причине применение гидразина предпочтительнее по сравнению с более сложными и трудно устранимыми веществами, поскольку гидразин при окислении преимущественно превращается в азот. Таким образом, все последующие синтезы проводили с применением гидразина.

При варьировании концентрации ионов серебра (I) в исходном растворе от 0.1 до 1 М полученные 3-Г материалы имели различную окраску, связанную с количеством и размером НЧ серебра. Так, из 0.1 М  $\text{AgNO}_3$  получали почти белый порошок, из 0.3 и 0.5 М – коричневый, из 0.8 и 1.0 М – серый. Отмечено, что при варьировании концентрации нитрата серебра изменяется и время созревания геля, поэтому нами проведено измерение вязкости реакционной смеси в процессе гелеобразования. На рис. 2 представлены зависимости вязкости от времени при различной концентрации серебра (I). Зависимость времени начала гелеобразования от концентрации нитрата серебра имеет экстремальный характер

(см. рис. 2, вставка). Видно, что быстрее всего гель образуется при концентрации  $\text{AgNO}_3$  0.3 и 0.5 М, медленнее – при 0.1 и 1.0 М. Данный факт расходится с предположением, что увеличение концентрации серебра приведет к образованию большего количества НЧ серебра, которые будут ускорять процесс образования геля. Возможно, это связано с катализом процесса гелеобразования основанием (водный раствор аммиака). В одном случае (1.0 М  $\text{AgNO}_3$ ) применение высоких концентраций нитрата серебра приводит к снижению концентрации  $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (и гидроксильных групп, соответственно), т.е. катализатора, и к замедлению процесса гелеобразования. С другой стороны, слишком большое содержание гидрата аммиака (при 0.1 М  $\text{AgNO}_3$ ) ингибирует процесс созревания геля, придавая поверхности частиц золь большой отрицательный заряд и препятствуя их агломерации, что и обуславливает столь сильное изменение в скорости гелеобразования, связанное с высокой концентрацией катализатора. Аналогичная зависимость имеет место и при увеличении концентрации добавляемого восстановителя: с ростом концентрации гидразина увеличивается время созревания геля. Мы предполагаем, что в данном случае природа эффекта аналогична описанной выше – нейтрализация гидроксильных групп происходит соляной кислотой, связанной с гидразином.

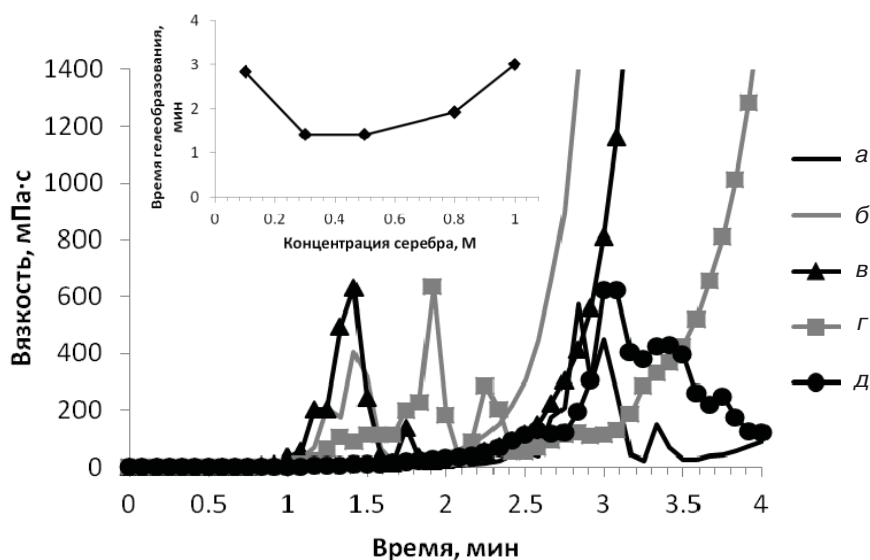


Рис. 2. Зависимость вязкости 3-Г смеси от времени при различных исходных концентрациях нитрата серебра (М): а – 0.1; б – 0.3; в – 0.5; г – 0.8; д – 1.0. Внутри: зависимость начала гелеобразования от концентрации нитрата серебра (по появлению первого максимума вязкости для каждой кривой)

Также процесс синтеза 3-Г материалов во времени изучали методом динамического рассея-

ния света. Получены данные о среднем гидродинамическом радиусе и дзета-потенциале частиц,



образующихся в процессе синтеза. Установлено, что уже в начальный момент времени размер образующихся силикатных частиц составляет сотни нанометров. При этом корреляции между концентрацией серебра в смеси и размером частиц не обнаружено. Измерение дзета-потенциала силикатных частиц без добавления нитрата серебра показало, что на начальных промежутках времени (первые 10–15 с) 3-Г частицы имеют средний отрицательный заряд в 70 мВ, связанный с наличием в смеси катализатора – гидроксильных групп. Далее величина среднего заряда сме-

щается к нулю, но при этом наблюдается очень широкое распределение значения заряда частиц (полуширина пика примерно 100 мВ).

#### Оптические свойства золь-гель материалов

Полученные золь-гель материалы (с различной концентрацией серебра) использовали в качестве платформ для получения сигнала ГКР. В качестве модельного соединения с известным спектром ГКР использовали Р6Ж ( $10^{-4}$  М водный раствор) [24]. Зарегистрированные спектры ГКР представлены на рис. 3.

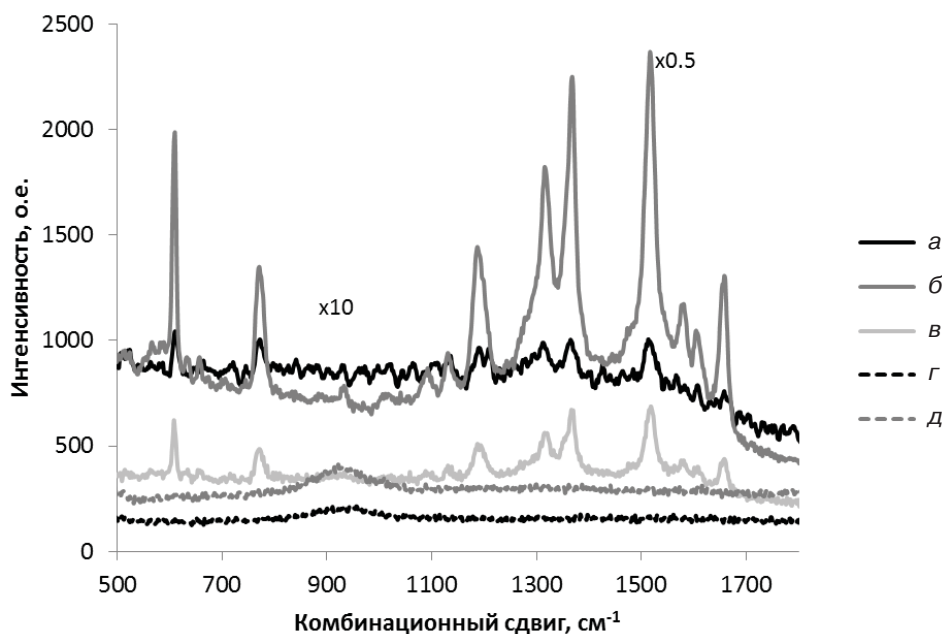


Рис. 3. ГКР-спектры Р6Ж ( $10^{-4}$ М), полученные на 3-Г порошках, приготовленных с использованием различных концентраций нитрата серебра (М): а – 0.1 (увеличен в 10 раз); б – 0.3 (уменьшен в 2 раза); в – 0.5; г – 0.8; д – 1.0

Видно, что с увеличением количества серебра интенсивность спектров ГКР Р6Ж увеличивается нелинейно. Только для образцов, полученных с использованием 0.1, 0.3 и 0.5 М растворов нитрата серебра, удалось получить спектры ГКР (см. рис. 3 а, б, в). Для образцов, полученных с использованием 0.8 и 1.0 М раствором нитрата серебра, спектры ГКР исчезают (рис. 3, г, д). Примечательно, что наиболее интенсивный сигнал ГКР получен для образца, приготовленного из 0.3 М  $\text{AgNO}_3$  (рис. 3, б).

Для объяснения влияния концентрации исходного раствора нитрата серебра на интенсивность сигнала ГКР полученные 3-Г материалы исследовали методом спектроскопии диффузного отражения. В качестве образца сравнения использовали контрольный 3-Г образец, в котором нитрат серебра заменяли на нитрат натрия

(0.1 М). На рис. 4 представлены спектры диффузного отражения 3-Г порошков, содержащих различное количество серебра (в пересчете на спектры поглощения). Видно, что спектры всех образцов имеют широкую область поглощения от 350 до 800 нм, а образцы, полученные при концентрации серебра 0.1 (см. рис. 4, а), 0.3 (см. рис. 4, б) и 0.5 М (см. рис. 4, в), имеют максимум поглощения в области 400–500 нм, что подтверждает наличие наноразмерных частиц  $\text{Ag}$ , имеющих плазмонно-резонансное поглощение в этой области (для сравнения приведен спектр НЧ серебра диаметром 40 нм). Увеличение максимума поглощения (см. рис. 4, а–в), его уширение и сдвиг в длинноволновую область (см. рис. 4 г, д) происходит в связи с увеличением числа, размера и полидисперсности частиц серебра. Увеличение числа НЧ серебра в образцах приводит к умень-





шению расстояния между ними, а агрегация при высушивании приводит к смещению и исчезновению полосы плазмонного поглощения. Дополнительно, увеличение числа и размера агрегатов приводит к увеличению отражающей способности порошков, что и обуславливает не-

линейную зависимость спектров отражения от концентрации серебра. С другой стороны, широкая область поглощения позволяет использовать источник лазерного излучения с любой длиной волны в данной области (400–800 нм) с почти одинаковой эффективностью.

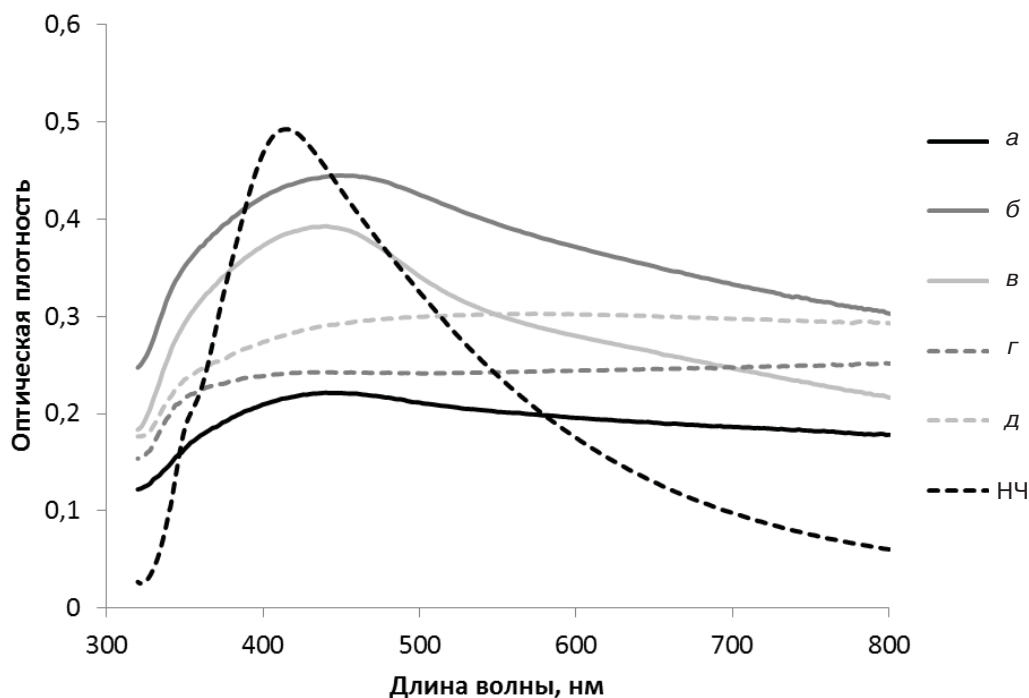


Рис. 4. Спектры диффузного отражения (в пересчете на поглощение) З-Г порошков, приготовленных с использованием различных концентраций нитрата серебра (М): а – 0.1; б – 0.3; в – 0.5; г – 0.8; д – 1.0. Спектр «НЧ» соответствует водному раствору НЧ серебра (40±14 нм) (получен нами при реакции цитратного восстановления)

При сравнении результатов, полученных методами спектроскопии КР и спектроскопии диффузного отражения света, можно увидеть, что наибольшее поглощение соответствует самой высокой интенсивности сигнала ГКР (см. рис. 3, в и 4, в). Порошки, приготовленные на основе 0.1 и 0.5 М  $\text{AgNO}_3$ , дают значительно меньшую интенсивность как спектров поглощения, так и спектров ГКР (см. рис. 3, а, в и 4 а, в). Таким образом, наблюдается зависимость между плазмонным поглощением НЧ серебра и интенсивностью сигнала ГКР.

Эффективность полученного З-Г материала (порошка З-Г, содержащего 0.3 М  $\text{AgNO}_3$ ) оценивали путем расчета коэффициента усиления ГКР, используя хорошо известное уравнение (например, см. [24]), т.е. рассчитывали отношение интенсивности сигнала ГКР к интенсивности соответствующего пика КР раствора родамина 6Ж с концентрацией  $10^{-3}$  М. При этом коэффициент усиления составил порядка  $10^4$ .

#### Твердофазная экстракция

Для оценки возможности применения синтезированных З-Г материалов в качестве сорбентов для твердофазной экстракции как модельных соединений выбраны родамин 6Ж и пирен. Оценку сорбционных свойств проводили для З-Г образцов, синтезированных с добавлением 0.3 М нитрата серебра, поскольку именно они, как показано ранее, максимально усиливают сигнал ГКР. Предварительно оценивали степень извлечения веществ при пропускании 1 мл раствора через слой сорбента (использовали растворы Р6Ж:  $5 \cdot 10^{-5}$ ,  $10^{-5}$ ,  $5 \cdot 10^{-6}$  и  $10^{-6}$  М, пирена:  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  М), при этом регистрируя спектры поглощения растворов аналитов до и после колонки (или спектры люминесценции для растворов низкой концентрации). Установлено, что степень извлечения для Р6Ж находится в интервале от 75% ( $5 \cdot 10^{-5}$  М) до 93% и для пирена – от 77% ( $10^{-4}$  М) до 98% ( $10^{-6}$  М). Далее для осуществления концентрирования через колонку пропускали



больший объем раствора (10 мл) с наименьшей концентрацией ( $10^{-6}$ М) аналита и методом конфокальной спектроскопии КР регистрировали КР-спектры непосредственно в твердой фазе (см. рис. 1). При этом удалось зафиксировать сигнал ГКР и для Р6Ж, и для пирена, согласующиеся с литературными данными [22, 24], что подтверждает возможность одновременного концентрирования веществ и их определения методом ГКР на предложенных 3-Г материалах.

### Заключение

В работе предложены новые 3-Г материалы, содержащие НЧ серебра, для применения в качестве ГКР-платформ и сорбентов для концентрирования. Разработана методика синтеза 3-Г материалов с использованием ТЭОС в качестве прекурсора с одновременным восстановлением ионов серебра гидразином, формированием и стабилизацией НЧ металла непосредственно в объеме 3-Г смеси. Показано, что оптимальным восстановителем НЧ серебра в данном случае является водный раствор гидразина солянокислого. Изучено изменение вязкости реакционной смеси, а также спектров диффузного отражения и спектров ГКР полученных 3-Г материалов при варьировании концентрации добавляемого нитрата серебра. Методом конфокальной КР-спектроскопии показано усиление КР-спектров Р6Ж на полученных 3-Г порошках приблизительно в  $10^4$ . Проведена твердофазная экстракция и последующее ГКР-детектирование Р6Ж и пирена на предложенных 3-Г материалах.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 12-03-92699-ИНД\_а).*

### Список литературы

1. Zhang Hui, Fan Duowang, Yu Tianzhi, Wang Chenglong. Characterization of anti-reflective and self-cleaning  $\text{SiO}_2$ - $\text{TiO}_2$  composite film // J. Sol-Gel Sci. Techn. 2013. Vol. 66, № 2. P. 274–279.
2. Siswoyo Lim, Lee Wah, Takeuchi Toyohide. Separation of gold nanoparticles with a monolithic silica capillary column in liquid chromatography // Anal. Sci. 2012. Vol. 28, № 2. P. 107–113.
3. Tyszikiewicz C., Karasinski P., Rogozinski R. Sensitive Films for Optical Detection of Ammonia and Nitrogen Dioxide // Acta Phys. Polonica A. 2012. Vol. 122, № 5. P. 915–920.
4. Ghaddab B., Sanchez J. B., Mavon C., Paillet M., Parret R., Zahab A. A., Bantignies J. -L., Flaud V., Beche E., Berger F. Detection of  $\text{O}_3$  and  $\text{NH}_3$  using hybrid tin dioxide/carbon nanotubes sensors: Influence of materials and processing on sensor's sensitivity // Sensors Actuators B. 2012. Vol. 170. P. 67–74.
5. Kabir A., Furton K.G., Malik A. Innovations in sol-gel microextraction phases for solvent-free sample preparation in analytical chemistry // Trends in Anal. Chem. 2013. Vol. 45. P. 197–218.
6. Volkan M., Stokes D. L., Vo-Dinh T. Surface-enhanced Raman of dopamine and neurotransmitters using sol-gel substrates and polymer-coated fiber-optic probes // Appl. Spectroscopy. 2000. Vol. 54, № 12. P. 1842–1848.
7. Kang J. S., Lee Ch. J., Kim M. S., Lee M. S. New routes to the preparation of silver-doped sol-gel films for a SERS study // Bull. Korean Chem. Soc. 2003. Vol. 24, № 11. P. 1599–1604.
8. Farquharson S., Maksymiuk P. Simultaneous chemical separation and surface-enhanced Raman spectral detection using silver-doped Sol-Gels // Appl. Spectroscopy. 2003. Vol. 57, № 4. P. 479–481.
9. Fan M., Brolo A. G. Silver nanoparticles self assembly as SERS substrates with near single molecule detection limit // Phys.Chem. 2009. Vol. 11. P. 7381–7389.
10. Inscore F., Shende Ch., Sengupta At., Huang H., Farquharson S. Detection of drugs of abuse in saliva by surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) // Appl. Spectroscopy. 2011. Vol. 65, № 9. P. 1004–1008.
11. Heaps D. A., Griffiths P. R. Off-line direct deposition gas chromatography/surface-enhanced Raman scattering and the ramifications for on-line measurements // Appl. Spectroscopy. 2005. Vol. 59, № 11. P. 1305–1309.
12. Herman K., Mircescu N. E., Szabo L., Leopold L. F., Chis V., Leopold N. In situ silver spot preparation and on-plate surface-enhanced Raman scattering detection in thin layer chromatography separation // J. Appl. Spectrosc. 2013. Vol. 80, № 2. P. 311–314.
13. Freye C. E., Crane N. A., Kirchner T. B., Sepaniak M. J. Surface enhanced Raman scattering imaging of developed thin-layer chromatography plates // Anal. Chem. 2013. Vol. 85, № 8. P. 3991–3998.
14. Yuan Wang, He Jiuming, Hui Chen, Zhang Disheng, Hua Cai, Shao Huibo. Analysis of flavones in *Rubus parvifolius* Linn by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectroscopy and thin layer chromatography-Fourier transform surface enhanced Raman spectroscopy // Chinese J. Anal. Chem. 2006. Vol. 34, № 8. P. 1073–1077.
15. Trachta G., Schwarze B., Sagmuller B., Brehm G., Schneider S. Combination of high-performance liquid chromatography and SERS detection applied to the analysis of drugs in human blood and urine // J. Molec. Struct. 2004. Vol. 693, № 1–3. P. 175–185.
16. Nicolae Leopold, Bernhard Lendl. On-column silver substrate synthesis and surface-enhanced Raman detection in capillary electrophoresis // Anal. Bioanal. Chem. 2010. Vol. 396. P. 2341–2348.
17. Lucht S., Murphy T., Schmidt H., Kronfeldt H.-D. Optimized recipe for sol-gel-based SERS substrates // J. Raman Spectrosc. 2000. Vol. 31. P. 1017–1022.
18. Volkan M., Stokes D.L., Vo-Dinh T. A sol-gel derived AgCl photochromic coating on glass for SERS chemical sensor application // Sensors Actuators B. 2005. Vol. 106. P. 660–667.



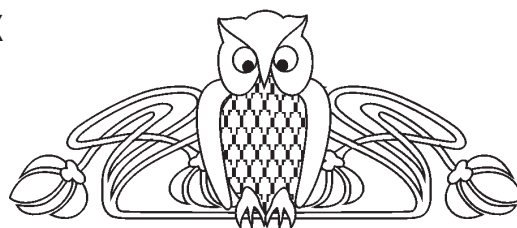
19. Farquharson S., Gift A., Shende Ch., Inscore F., Ordway B., Farquharson C., Murren J. Surface-enhanced Raman spectral measurements of 5-fluorouracil in saliva // *Molecules*. 2008. Vol. 13. P. 2608–2627.
20. Du Jingjing, Jing Chuanyong. Preparation of thiol modified Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and Ag Magnetic SERS probe for PAHs detection and identification // *J. Phys. Chem. C*. 2011. Vol. 115, № 36. P. 17829–17835.
21. Balakrishnan Karthikeyan. SERS of 7-azaindole adsorbed on Ag doped sol-gel film and Ag sol: a comparative investigation // *J. Sol-Gel Sci. Technol*. 2008. Vol. 45. P. 79–82.
22. Leyton P., Sanchez-Cortes S., Carcia-Ramos J. V., Domingo C., Campos-Vallette M., Saitz C., Clavijo R. E. Selective molecular recognition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on calix[4]arene-functionalized Ag nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering // *J. Phys. Chem. B*. 2004. Vol. 108, № 45. P. 17484–17490.
23. Shende Ch., Inscore F., Sengupta A., Stuart J., Farquharson S. Rapid extraction and detection of trace Chlorpyrifos-methyl in orange juice by surface-enhanced Raman spectroscopy // *Sens. Instrumen. Food Qual*. 2010. Vol. 4. P. 101–107.
24. Wen-Chi Lin, Lu-Shing Liao, Yi-Hui Chen, Hung-Chun Chang, Din Ping Tsai, Hai-Pang Chiang. Size dependence of nanoparticle-SERS enhancement from silver film over nanosphere (AgFON) substrate // *Plasmonics*. 2011. Vol. 6. P. 201–206.

УДК 547.822.1+544.18

## РЕАКЦИЯ МАННИХА В РЯДУ ЗАМЕЩЕННЫХ 4-ГИДРОКСИ-2Н-(ПИРОН)ХРОМЕН-2-ОНОВ

Д. Н. Кумаргалиева, О. В. Федотова, О. А. Мажукина

Саратовский государственный университет  
E-mail: kumargalieva.diana@yandex.ru



Впервые получены основания Манниха – 4-гидрокси-3-диметиламинометил-6-метилпиран-2-он, -2Н-хромен-2-он, -3-оксо-1,3-дифенилпропилхромен-2-он солянокислые, 4-гидрокси-3-(2-пиперидометил-3-оксо-1,3-дифенилпропил)хромен-2-он, – удобные субстраты для синтеза гетероспиранов. Найдено, что в условиях реакции Манниха в присутствии минеральных кислот возникает 3,3'-метилден-бис-(4-гидрокси-2Н-хромен-2-он), известный как медицинский препарат дикумарол антикоагулянтного действия.  
**Ключевые слова:** реакция Манниха, аминометилирование, пиран-2-он, хромен-2-он, дикумарол.

### The Mannich Reaction in a Number of Substituted 4-hydroxy-2H-(pyron)chromen-2-ones

D. N. Kumargalieva, O. V. Fedotova, O. A. Mazhukina

First obtained the Mannich basen – 4-hydroxy-3-dimethylaminomethyl-6-methylpiran-2-one, -2H-chromen-2-one, -3-oxo-1,3-diphenylpropylchromen-2-one muriatic, 4-hydroxy-3-(2-piperidomethyl-3-oxo-1,3-diphenylpropyl)chromen-2-one – comfortable substrate for the synthesis of heterospirans. It is found that in the conditions of the Mannich reaction in the presence of mineral acids occurs 3,3'-methylenebis-(4-hydroxy-2H-chromen-2-one), known as medicine dicumarol anticoagulant action.

**Key words:** Mannich reaction, aminometylation, pyran-2-one, chromen-2-one, dicumarol.

Реакция Манниха занимает важное место в органическом синтезе [1–3], так как относится к типу химических превращений, которые позволяют одновременно с образованием новой

углерод-углеродной связи вводить в структуру соединения функциональные группы. Непосредственно сами основания Манниха, полученные из кетонов и альдегидов, используются как предшественники енонов, содержащих кратную связь и карбонильную группу, которые, в свою очередь, посредством реакции Дильса–Альдера могут быть превращены в биологически активные спироциклические соединения. Это определяет высокую практическую значимость исследований в данном направлении.

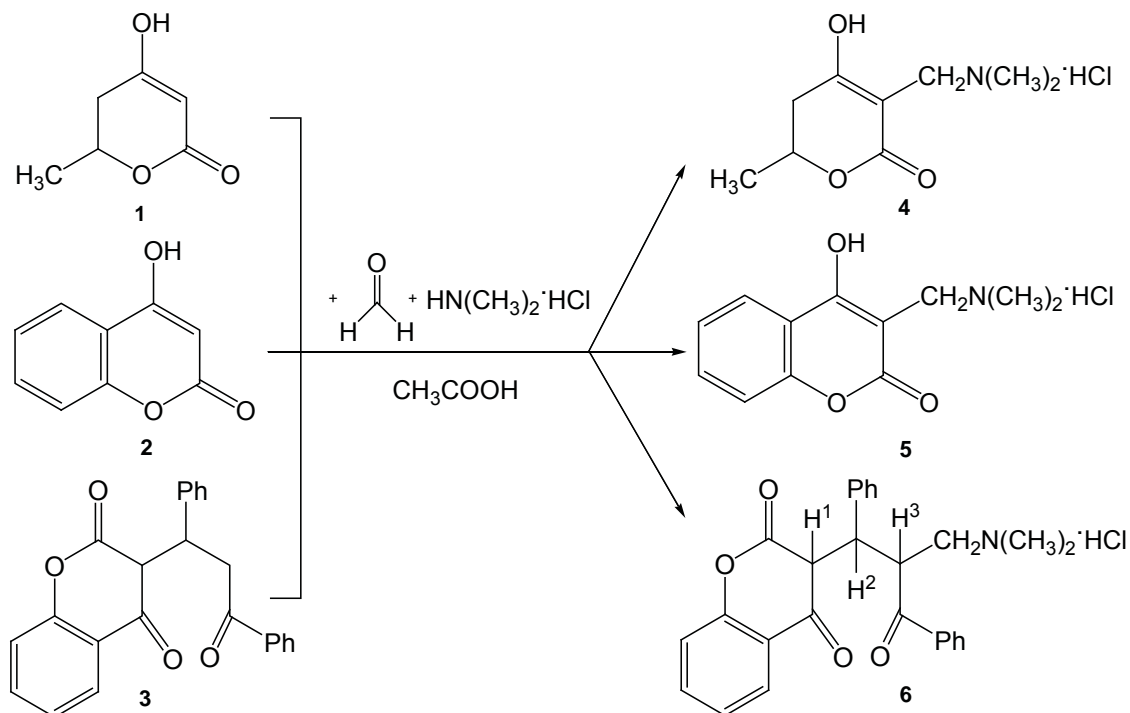
Введение в реакцию Манниха замещенных 4-гидрокси-2Н-(пирон)хромен-2-онов представлялось перспективным, учитывая их высокий фармакологический и химический потенциал, обусловленный наличием как кетонной, так и лактонной карбонильных групп, гетероциклической системы, способной к рециклизации. Продукты такого взаимодействия могут приводить к гетеросистемам, сочетающим в себе свойства как оснований Манниха, так и (пирон)хромен-2-онового фрагмента.

Нами впервые проведена реакция Манниха с использованием в качестве субстратов 4-гидрокси-6-метилпиран-2-она (1) и его бензанилированных аналогов: 4-гидроксихромен-2-она (2) и 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)хромен-2-она (3). При кипячении их в уксусной



кислоте в присутствии параформа и диметиламина солянокислого получены соответствующие

гидрохлориды оснований Манниха с выходом 10, 51 и 86 % соответственно.



Строение вновь синтезированных продуктов подтверждено данными ИК и ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии (таблица).

Установлено, что бензаннелирование не оказывает влияние на характер превращения пиранонового фрагмента в условиях реакции

Манниха для соединений 1, 2. Принимая во внимание выходы полученных гидрохлоридов основания Манниха, сделан вывод о большей активности метиленового фрагмента в алифатической части трикетона 3, вовлекаемого в аминотетирование.

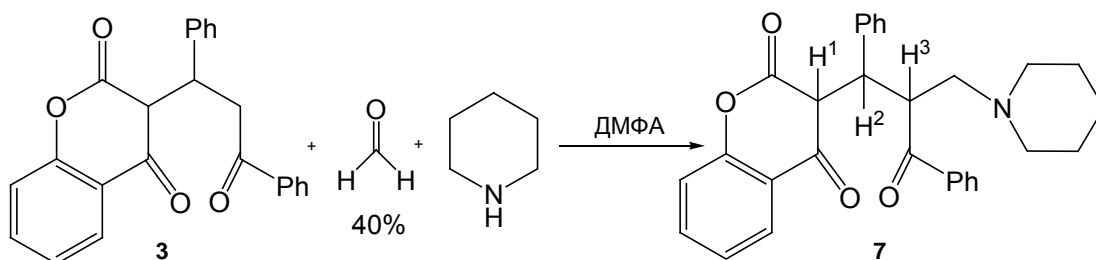
Спектральные характеристики соединений 4–6

№	ИК (ν, см <sup>-1</sup> )	ЯМР <sup>1</sup> H (δ, м.д.)
4	1720–1700 (C=O, лакт.) 3020–2880 (аминогр.) 3590–3300 (ОН) 1458–1380 (CH <sub>3</sub> ) 1650 (C=C)	–
5	1710 (C=O, лакт.) 2815–2700 (CH <sub>3</sub> -N, CH <sub>2</sub> -N) 3250–2840 (аминогр.) 3750–3460 (ОН)	3,84 (с., 6H, CH <sub>3</sub> ) 2,72 (с., 2H, CH <sub>2</sub> ) 2,17 (с., 1H, NH) 11,01 (с., 1H, OH) 7,34–8,01 (м., 4H, Ar)
6	1715–1706 (C=O, лакт.) 1684–1679 (C=O) 2948–2932 (CH <sub>2</sub> ) 3046–3014 (аминогр.)	2,50 (с., 6H, CH <sub>3</sub> ) 4,02 (с., 2H, CH <sub>2</sub> ) 5,36 (д., 1H, H <sup>1</sup> ; J=4 Гц) 5,04 (т., 1H, H <sup>2</sup> ; J=3,4 Гц) 4,91 (т., 1H, H <sup>3</sup> ; J=5 Гц) 2,09 (с., 1H, NH) 7,18–8,01 (м., 14H, H <sub>аром</sub> )



Изменение условий реакции – замена параформа на формалин в присутствии пиперидина в избытке диметилформаида, как растворителя, и перемешивание при комнатной температуре

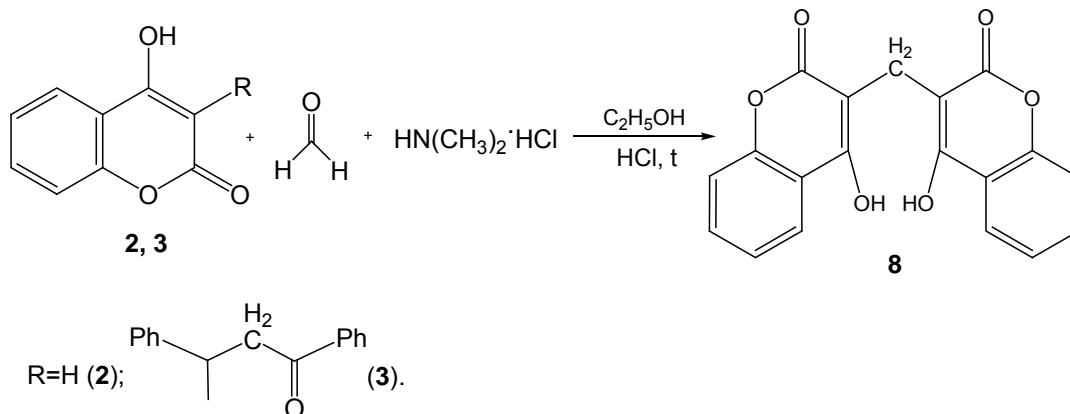
позволяет переходить к 4-гидрокси-3-(2-пиперидометил-3-оксо-1,3-дифенилпропил)хромен-2-ону (7) на основе 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)хромен-2-она (3):



В ЯМР  $^1\text{H}$  спектре данного продукта дублет магнитно эквивалентных протонов  $\text{CH}_2$ -группы отмечен при 3.11 м.д. ( $J = 4$  Гц). Дублет протона  $\text{H}^1$  находится в области 4.56 м.д. ( $J = 3.8$  Гц), триплет протона  $\text{H}^2$  проявляется при 4.69 м.д. ( $J = 14.8$  Гц), триплет протона  $\text{H}^3$  – 3.91 м.д. ( $J = 6.2$  Гц). Мультиплеты алифатических и ароматических протонов найдены в области

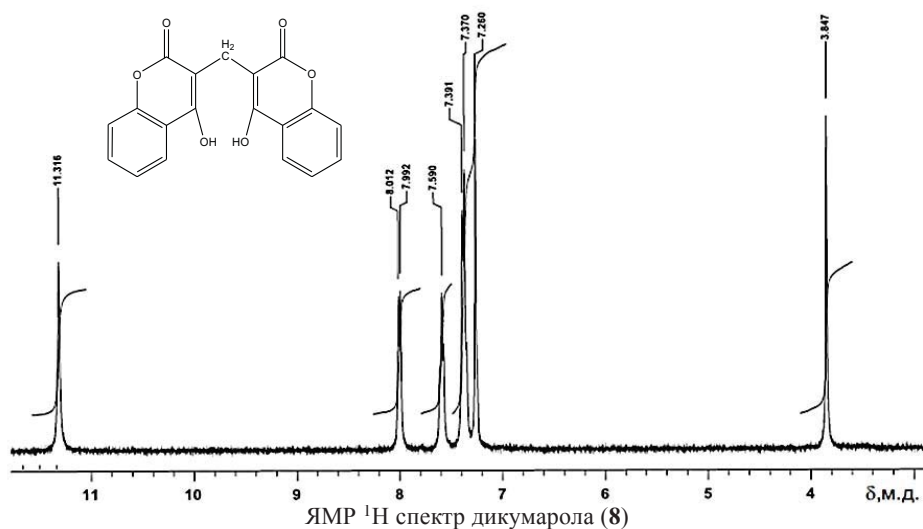
1.25–2.17 м.д. и 6.78–8.20 м.д. соответственно.

В условиях реакции Манниха в присутствии хлороводородной кислоты возникает метиленбисхроменон 8, известный как медицинский препарат антикоагулянтного действия – дикумарол, который применяется при инфаркте, тромбозе и других заболеваниях, связанных с необходимостью снижения свертываемости крови [4].



Продукт выделен в диенольной форме, о чем свидетельствует синглет гидроксильной группы, найденный в области 11.32 м.д. ЯМР  $^1\text{H}$  спектра (рисунок), вследствие симметричности

строения соединения 8. Исходя из полученного результата, сделан вывод, что третичный амин не участвует в данном процессе. Реакция идет по механизму дикетонной конденсации.

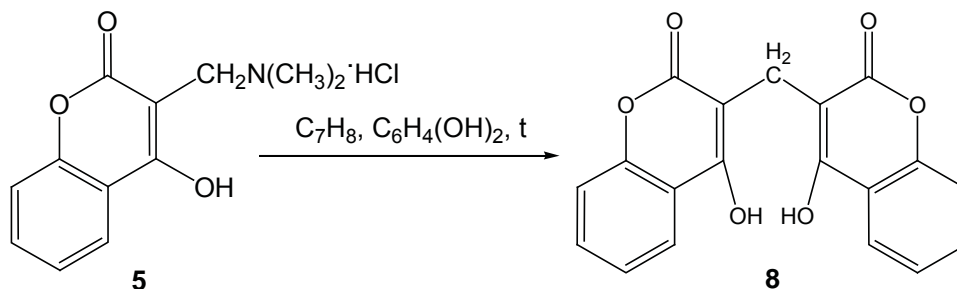




Субстрат **3**, вероятно, в выбранных условиях предварительно претерпевает ретропревращение.

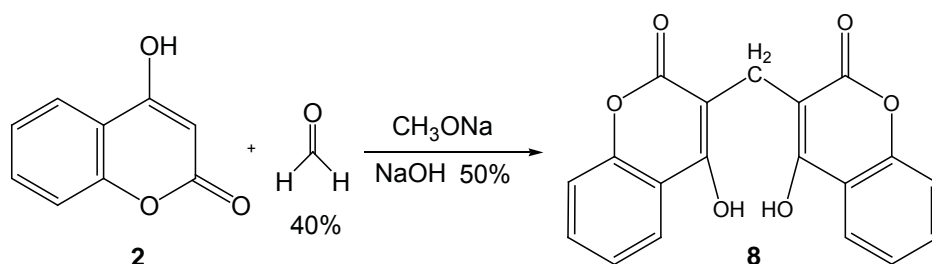
Учитывая, что основания Манниха способны к дезаминированию с образованием метилкетонов и димеризации в спиросоединения [5–7], а также вероятность образования

последнего при непосредственном воздействии формальдегида (и его водного раствора, формалина) [8] нами осуществлено кипячение соли Манниха **5** в толуоле в присутствии каталитического количества гидрохинона, результатом чего явилось выделение дикумарола **8** с выходом 12%:



На первом этапе реакции происходит дезаминирование соли, чему способствует высокая температура процесса [9]. Далее взаимодействие идет по механизму дикетонной конденсации. Spirocyclic product in these conditions cannot be obtained.

Взаимодействие 4-гидроксихромен-2-она (**2**) с формалином в среде метилата натрия в присутствии каталитического количества 50% раствора щелочи также приводит к дикумаролу **8** с выходом 90%:



Ввиду количественного выхода продукта предлагаемая методика может быть использована в практических целях.

#### Экспериментальная часть

ИК спектры записывались на ИК Фурье-спектрометре ФСМ 1201 в таблетках KBr.

ЯМР  $^1H$  спектры получены на спектрометре Varian 400 (400 МГц,  $CDCl_3$ ). Внутренний стандарт – тетраметилсилан.

#### Аминотилирование соединений **1**, **2**, **3**

А) 0.5 г 4-гидрокси-6-метилпиран-2-она (**1**), 0.47 г параформа, 0.74 г диметиламина солянокислого и 20 мл ледяной уксусной кислоты нагревают в колбе с обратным холодильником. Контроль за реакцией осуществляется по ТСХ. Смесь разбавляют водой. Кристаллы из воды экстрагируют эфиром. Эфирный слой отделяют и сушат в вакууме. Выход 4-гидрокси-3-диметиламинометил-6-метилпиран-2-она солянокислого (**4**) 0.07 г (10%), Т. пл. 240–241 °С.

Найдено %: С 48,32; Н 7,03; N 5,98; Cl 16,14. Вычислено %: С 48,76; Н 7,27; N 6,32; Cl 15,99.

Б) Аналогично получают 4-гидрокси-3-диметиламинометил-2Н-хромен-2-он солянокислый (**5**) при нагревании 0.5 г 4-гидрокси-2Н-хромен-2-она (**2**), 0.37 г параформа и 0.61 г диметиламина солянокислого в 20 мл ледяной уксусной кислоты. Выход 0.4 г (51%), Т. пл. 221–222 °С. Найдено %: С 56,71; Н 5,08; N 5,38; Cl 13,33. Вычислено %: С 56,37; Н 5,52; N 5,48; Cl 13,77.

В) По этой же методике синтезируют 4-гидрокси-3-(2-диметиламинометил-3-оксо-1,3-дифенилпропил)хромен-2-он солянокислый (**6**) взаимодействием 0.2 г 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)хромен-2-она (**3**), 0.06 г параформа и 0.1 г диметиламина солянокислого в 20 мл ледяной уксусной кислоты. Выход 0.2 г (86%), Т. пл. 173–174 °С. Найдено %: С 71,80; Н 6,03; N 3,09; Cl 7,18. Вычислено %: С 71,76; Н 5,76; N 3,10; Cl 7,66.



Г) В плоскодонную колбу объемом 100 мл помещают 0.2 г 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)хромен-2-она (**3**), 0.6 мл формалина, 0.6 мл пиперидина и 10 мл ДМФА. Перемешивают на магнитной мешалке без нагревания. Контроль за реакцией осуществляется по ТСХ. Выпаривают ДМФА, кристаллы затирают в изопропиловом спирте. Выход 4-гидрокси-3-(2-пиперидометил-3-оксо-1,3-дифенилпропил)хромен-2-она (**7**) 0.19 г (82 %), Т. пл. 282–283 °С. Найдено %: С 76,73; Н 6,44; N 3,12. Вычислено %: С 77,09; Н 6,21; N 3,00.

#### Синтез 3,3'-метилена-бис-(4-гидрокси-2Н-хромен-2-она) (**8**)

А) 0.4 г 4-гидрокси-2Н-хромен-2-она (**2**), 0.16 г параформа, 0.25 г диметиламина солянокислого, 20 мл этилового спирта и 0.5 мл концентрированной соляной кислоты нагревают в колбе с обратным холодильником. Контроль за реакцией осуществляется по ТСХ. Смесь разбавляют водой. Кристаллы из воды экстрагируют эфиром. Эфирный слой отделяют и сушат в вакууме. Выход 0.27 г (32%). Т. пл. 283–284 °С. Найдено %: С 67,67; Н 3,99. Вычислено %: С 67,86; Н 3,60. ИК ( $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ ): 1687–1615 (C=O, лакт.), 3097–2904 (ОН). ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м.д.): 3.85 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 11.32 (с, 2H, ОН), 7.26–8.01 (м, 8H,  $\text{H}_{\text{аром}}$ ).

Б) По этой же методике осуществляют взаимодействие 1 г 4-гидрокси-3-(3-оксо-1,3-дифенилпропил)хромен-2-она (**3**), 3 г параформа и 0.48 г диметиламина солянокислого. Выход 1.09 г (12%). Т. пл. 283–284 °С. Найдено %: С 68,37; Н 3,83. Вычислено %: С 67,86; Н 3,60. ИК ( $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ ): 1689–1617 (C=O, лакт.), 3083–2911 (ОН). ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м.д.): 3.85 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 11.32 (с, 2H, ОН), 7.26–8.01 (м, 8H,  $\text{H}_{\text{аром}}$ ).

В) 0.15 г 4-гидрокси-3-диметиламинометил-2Н-хромен-2-она солянокислого (**5**), 3.5 мл толуола и 0.005 г гидрохинона кипятят в круглодонной колбе, снабженной воздушным холодильником. Контроль за реакцией осуществляется по ТСХ. Растворитель выпаривают, кристаллы затирают в гексане, затем сушат в вакууме. Выход 0.12 г (12 %). Т. пл. 283–284 °С. Найдено %: С 67,31; Н 4,08. Вычислено %: С 67,86; Н 3,60. ИК ( $\nu$ ,

$\text{см}^{-1}$ ): 1690–1618 (C=O, лакт.), 3095–2908 (ОН). ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м.д.): 3.85 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 11.32 (с, 2H, ОН), 7.26–8.01 (м, 8H,  $\text{H}_{\text{аром}}$ ).

Г) В плоскодонную колбу помещают 20 мл метилата натрия, 0.6 г 50%-ного раствора NaOH, 1 г 4-гидрокси-2Н-хромен-2-она (**2**) и 0.02 мл 40%-ного раствора формальдегида (формалина). Перемешивают на магнитной мешалке без нагревания. Контроль за реакцией осуществляется по ТСХ. Выпадает бесцветный творожистый осадок. Смесь нейтрализуют уксусной кислотой. Выпавшие кристаллы отфильтровывают, промывают водой, сушат в вакууме. Выход 0.9 г (90 %). Т. пл. 283–284 °С. Найдено %: С 68,13; Н 4,01. Вычислено %: С 67,86; Н 3,60. ИК ( $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ ): 1708–1653 (C=O, лакт.), 3070–2923 (ОН). ЯМР  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , м.д.): 3.85 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 11.32 (с, 2H, ОН), 7.26–8.01 (м, 8H,  $\text{H}_{\text{аром}}$ ).

#### Список литературы

1. Luo J., Wang H., Zhong F. Direct asymmetric Mannich reaction of phthalides // Chem. Commun. 2012. Vol. 48. P. 4707–4709.
2. Hao W., Jiang B. A new mild base-catalyzed Mannich reaction // Org. Biomol. Chem. 2009. Vol. 7. P. 1410–1414.
3. Kundu K., Nayak K. Camphor-10-sulfonic acid catalyzed direct one-pot three-component Mannich type reaction // RSC Adv. 2012. Vol. 2. P. 480–486.
4. Кудряшов Б. А., Ляпина Л. А., Зверева Е. Г. Сравнительное изучение свойств дикумарина и его соединений с гепарином // Вопр. мед. химии. 1985. Т. 31. С. 79.
5. Тиличенко М. Н., Павел Г. В. Реакция Манниха в ряду 1,5-дикетонов // Журн. орг. химии. 1968. № 4. С. 1420.
6. Тиличенко М. Н., Павел Г. В. Аминотетилирование 1,5-дикетонов // ХГС. 1968. № 1. С. 484.
7. House H. O., Hortmann A. G. The Structure of 2,6-Dibenzalicyclohexanone Dimer // J. Org. Chem. 1961. Vol. 26, № 7. P. 2190–2194.
8. Петраков С. Н., Сорокин Н. Н., Федотова О. В., Харченко В. Г. Особенности конденсации формальдегида с тетралоном-1 и свойства продуктов реакции // Материалы конференции молодых ученых. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1987. С. 79–82.
9. Тиличенко М. Н., Павел Г. В.  $\alpha$ -Метен-1,5-дикетоны арилалифатического ряда // Журн. орг. химии. 1966. № 2. С. 2262.

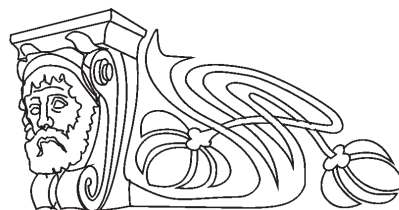


УДК:547.796.1+547.791.9

## СИНТЕЗ, ПУТИ ОБРАЗОВАНИЯ И ИЗОМЕРИЗАЦИЯ ТЕТРАЗОЛОХИНАЗОЛИНОВ

А. А. Матвеева, М. Ю. Борисова,  
В. С. Бойко, А. П. Кривенько

Саратовский государственный университет  
E-mail: annamatveeva2008@ya.ru



Трехкомпонентной циклоконденсацией (альдегид-кетон-аминоазол) получены в качестве мажорных продуктов тетразолахиназолины с линейным сочленением колец с примесью изомеров углового строения. Изучены возможные пути образования тетразолахиназолинов. Строение полученных соединений установлено с помощью ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  спектроскопии.

**Ключевые слова:** 5-аминотетразол, тетразолахиназолины, трехкомпонентная циклоконденсация.

### The Synthesis, Paths of the Formation and Isomerisation of Tetrazoloquinazolines

A. A. Matveeva, M. Yu. Borisova,  
V. S. Boyko, A. P. Krivenko

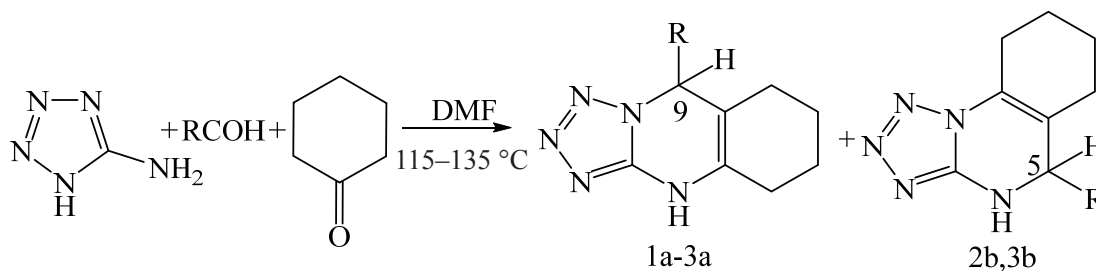
Tetrazoloquinazolines with linear fused rings were obtained as major products by three-component cyclocondensation (aldehyde-ketone-aminoazoles) with a mixture of isomers of angular structure. Possible ways of education tetrazoloquinazolines were explored. The structure of the compounds was elucidated by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy.  
**Key words:** 5-aminotetrazole, tetrazoloquinazolines, three-component cyclocondensation.

Частично гидрированные пиримидины и хиназолины обладают широким спектром биологического действия, активно изучаются 1,5-ди-

замещенные тетразолы, что обуславливает поиск путей синтеза соединений, сочетающих в своем составе эти фрагменты [1].

Ранее нами при конденсации  $\alpha,\beta$ -непредельных кетонов с аминоазолами (С-аминотетразол и С-амино-1,2,4-триазол) были получены региоизомерные азолахиназолины, отличающиеся типом сочленения колец [2].

С целью получения тетразолахиназолинов, минуя стадию образования  $\alpha,\beta$ -непредельного кетона, нами была использована методология трехкомпонентного синтеза (альдегид-кетон-аминоазол). Реакцию осуществляли при нагревании эквимольных количеств С-аминотетразола, фурфурола (тиофенового альдегида, бензальдегида) и циклогексанона в присутствии ДМФА. При этом с выходами 40–56% были получены смеси позиционных изомеров тиенил(фенил)тетразолахиназолинов **2a,б**, **3a,б**. При использовании в качестве альдегида фурфурола реакция протекала полностью селективно с образованием 9-фурил-4,5,6,7,8,9-гексагидротетразоло[5,1-*b*]хиназолина (**1a**). Аналогичная закономерность наблюдалась и при двухкомпонентном синтезе [2].



R = 2-фурил (**1a**), 2-тиенил (**2a,2b**), Ph (**3a,3b**)

Спектральные характеристики соединений 1-3, полученных разными способами – конденсацией  $\alpha,\beta$ -непредельных кетонов с С-амино-тетразолом (путь А) и трехкомпонентной конденсацией С-аминотетразол-альдегид-циклогексанон (путь В) совпадают.

По интегральной интенсивности сигналов протонов  $\text{H}^5$  и  $\text{H}^9$  установлено соотношение региоизомерных тетразолахиназолинов, изменяющееся

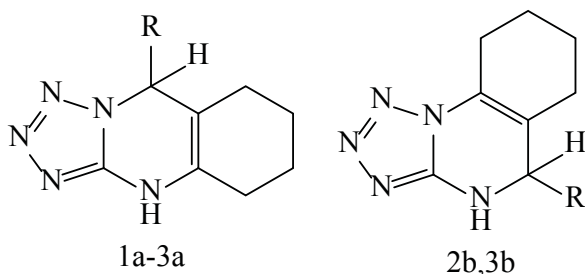
в зависимости от природы заместителя (тиенил, фенил), но с преобладанием линейнопостроенных систем (таблица) независимо от пути синтеза (А, В).

При трехкомпонентной циклоконденсации наблюдается тенденция к значительному увеличению доли изомера с угловым сочленением колец. Такой результат можно объяснить различными путями формирования пиримидинового цикла по пути А и В.



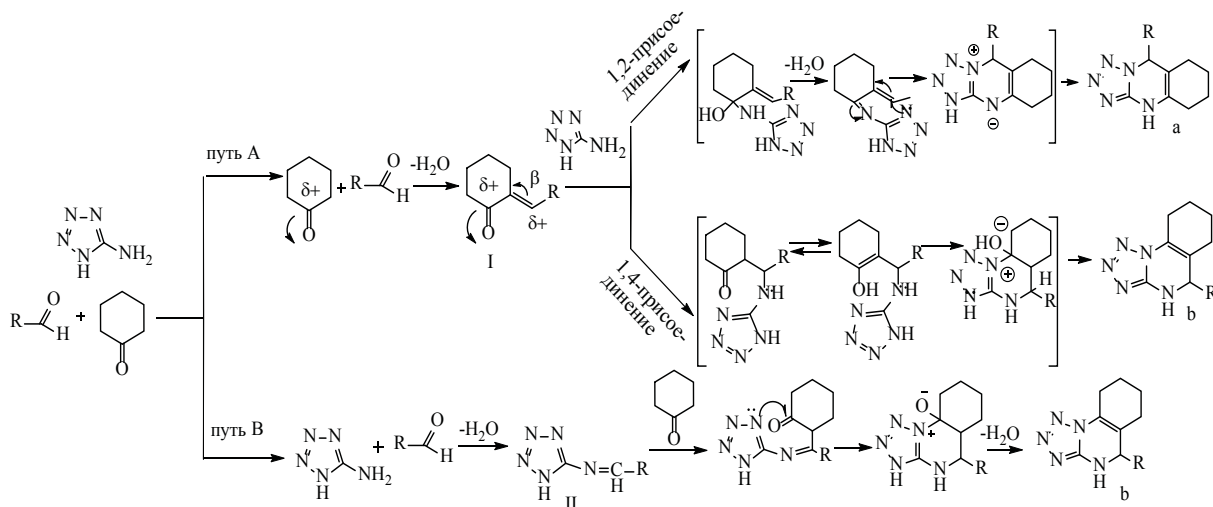


Соотношения региоизомерных тетразолахиназолинов



Путь синтеза	№ соединения	R	Соотношение изомеров a:b
A	1a	2-фурил	1:0
B			1:0
A	2a,b	2-тиенил	10:1
B			3:1
A	3a,b	Ph	5:1
B			1.25:1

Путь А можно представить через промежуточное образование  $\alpha,\beta$ -непредельного кетона I,



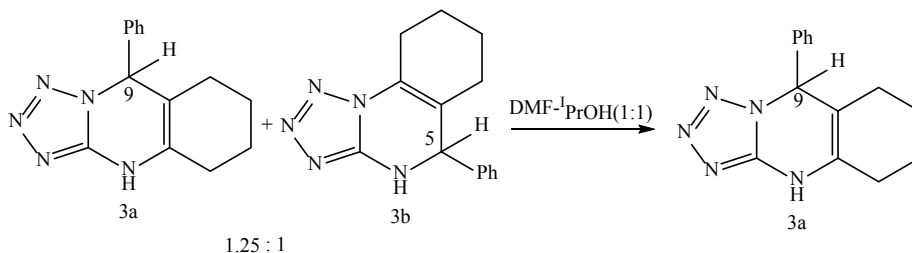
Учитывая различную термодинамическую устойчивость тетразолахиназолинов с 1,2- и 1,4-дигидропиримидиновым ядром, что было установлено ранее с помощью расчетных методов [4], мы попытались провести изомеризацию менее стабильного углового изомера в линейный на примере смеси соединений 3a,b.

Реакция проводилась при добавлении в кипящий насыщенный раствор смеси изомеров 3a и 3b (соотношение 1,25:1) в ДМФА :  $^i$ PrOH (1:1) затравки 9-фенил-4,5,6,7,8,9-гексагидротетразоло[5,1-b]хиназолина (3a) [5]

присоединение нуклеофила к которому может протекать как 1,2- или сопряженное 1,4-присоединение, что приводит к региоизомерам «а» и «b» в зависимости от величины положительного заряда на ключевых реакционных центрах (атоме углерода оксогруппы,  $\beta$ -атоме углерода) [3]. Образование линейных изомеров обусловлено большим частичным положительным зарядом на карбонильном углероде. Эта тенденция наиболее ярко выражена в случае фурфурилендциклогексанона (угловой изомер не образуется) вследствие расположения фуранового цикла в плоскости связей  $C=C=O$  [3]. Согласно данным РСА в бензилиденциклогексаноне (в отличие от фурилзамещенного аналога) фенильный заместитель выведен из сопряжения (находится под углом), что приводит к повышению частичного положительного заряда на  $\beta$ -центре, атаке нуклеофила по этому атому и формированию изомера «b».

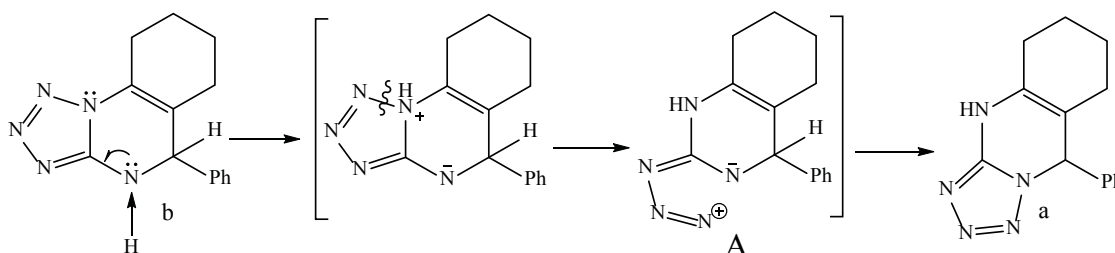
Увеличение доли изомера углового строения при синтезе по пути В можно объяснить его образованием не только через  $\alpha,\beta$ -непредельный кетон, согласно вышеприведенной схеме, но и через азометиновый интермедиат II.

и медленном охлаждении. Через 24 часа из раствора выпали кристаллы соединения 3a, в ЯМР  $^1H$  спектре которого сохраняется синглет протона Н-9 (5.97 м.д.) и отсутствует характеристичный для углового изомера сигнал протона Н-5 (6.09 м.д.). В ЯМР  $^{13}C$  исчезает удвоение всех сигналов спектра и остаются сигналы атомов углерода только линейного изомера 3a. После выпаривания маточного раствора 5-фенил-4,5,6,7,8,9-гексагидро-тетразоло[5,1-a]хиназолин (3b) в сухом остатке обнаружен не был (по ЯМР  $^1H$  спектру).



Полученные данные позволяют сделать вывод, что в выбранных условиях протекает прототропная изомеризация углового тетразолохиназолина 3b в линейный 3a. Вероятно, в растворе кислый NH – протон пиримидинового цикла изомера «b»

мигрирует к эндоциклическому основному атому азота, что способствует гетеролитическому разрыву N-N связи, возникновению биполярного иона А, дальнейшей циклизации «b» с формированием более термодинамически стабильной формы «a».



Полученные результаты позволяют прогнозировать направленный синтез линейно построенных тетразолохиназолинов трехкомпонентной циклоконденсацией в условиях изомеризации, что является предметом наших дальнейших исследований.

#### Экспериментальная часть

Спектры ЯМР  $^1\text{H}$  записаны на спектрометре Varian 400 МГц (400 МГц) в  $\text{CDCl}_3$  (внутренний стандарт ТМС). Контроль за протеканием реакций и индивидуальностью синтезированных соединений осуществляли на пластинах Silufol UV-254; элюент гексан : этилацетат : хлороформ 2:2:1. Температуры плавления определены в открытом капилляре.

**Синтез соединений 1-3** (общая методика). Смесь эквимольных количеств (5.88 ммоль) 5-аминотетразола, альдегида, циклогексанола кипятят 40–50 мин в присутствии каталитических количеств ДМФА (контроль ТСХ).

**9-(2-Фурил)-4,5,6,7,8,9-гексагидротетразоло[5,1-*b*]хиназолин (1a).** Выход 43%, т. пл. 221–224 °С. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м. д. ( $J$ , Гц): 9.39 (1H, с, NH); 7.35 (1H, д, д,  $^3J = 2.0$ ,  $^4J = 0.8$ , H-5 фурана); 6.42 (1H, д,  $^3J = 3.2$ , H-4 фурана); 6.34 (1H, д, д,  $^3J = 3.2$ ,  $^3J = 2.0$ , H-3 фурана); 6.08 (1H, с, H-9); 2.48–1.19 (8H, м,  $(\text{CH}_2)_4$ ). Найдено, %: C 59.25; H 5.39; N 28.79.  $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}$ . Вычислено, %: C 58.87, H 5.84; N 28.79.

**9-(2-Тиенил)-4,5,6,7,8,9-гексагидротетразоло[5,1-*b*]хиназолин (2a), 5-(2-тиенил)-4,5,6,7,8,9-гексагидротетразоло[5,1-*a*]хиназолин (2b).** Выход 40%, т. пл. 191–193 °С. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м. д.: 10.41 (1H, с, NHb); 9.43 (1H, с, NHa); 7.67–6.98 (3H, м,  $\text{C}_4\text{H}_3$ ); 6.44 (1H, с, H-5); 6.31 (1H, с, H-9); 3.40–1.64 (8H, м,  $(\text{CH}_2)_4$ ). Найдено, %: C 55.79; H 5.15; N 27.56.  $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{S}$ . Вычислено, %: C 55.58; H 5.05; N 27.01.

**9-Фенил-4,5,6,7,8,9-гексагидротетразоло[5,1-*b*]хиназолин (3a), 5-фенил-4,5,6,7,8,9-гексагидротетразоло[5,1-*a*]хиназолин (3b).** Выход 56%, т. пл. 226–227 °С. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м. д.: 10.15 (1H, с, NHb); 9.47 (1H, с, NHa); 7.54–7.24 (5H, м,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 5.96 (1H, с, H-5); 6.09 (1H, с, H-9); 2.95–0.86 (8H, м,  $(\text{CH}_2)_4$ ). Найдено, %: C 65.93; H 6.14; N 27.22.  $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_5$ . Вычислено, %: C 66.38; H 5.97; N 27.65.

#### Список литературы

1. Мызников Л. В., Грабалек А., Колдобский Г. И. Лекарственные препараты в ряду тетразолов // ХГС. 2007. № 1. С. 3.
2. Матвеева А. А. Синтез и строение потенциально биологически активных азолохиназолинов на основе илденциклогексанонов и аминоазолов // Изв. вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2011. № 6. С. 20.
3. Вацадзе С. З., Голиков А. Г., Кривенько А. П., Зык Н. В. Химия кросс-сопряженных диенонов // Успехи химии. 2008. Т. 77, № 8. С. 707.



4. Матикенова А. А., Матвеева А. А., Кривенько А. П. Синтез и строение потенциально биологически активных тетразолахиназолонов // Химия биологически активных веществ : межвуз. сб. науч. тр. Всерос. школы-конф. молодых ученых, аспирантов и студен-

тов с междунар. участием. Саратов, 2012. С. 100–101.

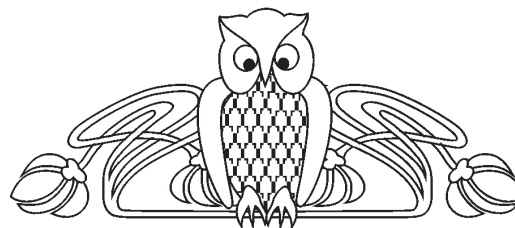
5. Матвеева А. А., Борисова Н. О., Поплевина Н. В., Кривенько А. П. Трехкомпонентный синтез тетразолапиримидинов, аннелированных карбоциклами С6-С8 // ХГС. 2012. № 12. С. 2000.

УДК 541.135:[544.478.013+622.276]

## О ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОЛИМЕРНО-БИТУМНЫХ ВЯЖУЩИХ НА ОСНОВЕ АСФАЛЬТОВ В ДОРОЖНОМ СТРОИТЕЛЬСТВЕ

О. И. Навотный, А. А. Стекольников<sup>1</sup>, В. А. Решетов, Д. А. Тиховский<sup>1</sup>, С. Б. Ромаденкина, А. М. Козлов<sup>1</sup>

Саратовский государственный университет  
<sup>1</sup>ООО «Волга-Девелопмент», Саратов  
E-mail: Volga-dv@yandex.ru



Получены асфальтосмолистые олигомеры из отходов нефтехимических производств (асфальтов). Из полученных продуктов методом компаундирования с битумом получены полимер-битумные вяжущие (ПБВ), определены их физико-механические характеристики по методам испытаний (для полимерно-битумных вяжущих) с целью применения их в дорожном строительстве.

**Ключевые слова:** асфальт, битум, полимерно-битумные вяжущие, асфальтосмолистые олигомеры, физико-механические характеристики.

### On the Possibility of Using Asphalt-based Polymeric-bitumen Binders in Road Building

O. I. Navotnyi, A. A. Stekol'nikov, V. A. Reshetov, D. A. Tikhovskiy, S. B. Romadyonkina, A. M. Kozlov

Asphalt-resinous oligomers were obtained from the wastage of petrochemical productions (asphalts). Polymer-bitumen binders (PBB) were obtained from these products by compounding with bitumen, their physico-mechanical characteristics were evaluated by test methods (for polymeric-bitumen binders) with the purpose of their application in road building.

**Key words:** asphalt, bitumen, polymeric-bitumen binders, asphalt-resinous oligomers, physico-mechanical characteristics.

Известно, что в последние годы увеличилась интенсивность эксплуатации дорог ввиду роста количества автотранспорта. Дороги, построенные на основе традиционных дорожных битумов, не выдерживают современных нагрузок и служат недолго, так как битумы склонны к «старению», то есть окисляются со временем и, соответственно, изменяют свои свойства. В результате этого процесса на дорожном покрытии появляются колеи, выбоины, трещины и т.д. На сегодняшний день

актуальным является использование материалов нового поколения в качестве вяжущих при приготовлении асфальтобетонных смесей для верхних слоёв дорожных покрытий – полимерно-битумных вяжущих (ПБВ) [1]. ПБВ производят введением полимерных добавок в битумы нефтяные дорожные вязкие, изготовленные по ГОСТ 22245-90. Результатом такой модификации битумов является улучшение таких свойств вяжущих, как: температура хрупкости, которая понижается и ПБВ становятся более морозостойки по сравнению с исходными битумами; растяжимость; температура размягчения, т.е. ПБВ плавятся при более высокой температуре, чем исходные битумы; пенетрация, ПБВ становятся более плотные, увеличивая тем самым твердость дорожного покрытия. Полученные продукты по физико-механическим показателям должны соответствовать требованиям и нормам ГОСТ Р 52056-2003 [2], указанным в табл. 1.

Из табл. 1 видно, что лучшим по прочности получаемого покрытия является ПБВ-40.

Цель настоящей работы – получение таких модифицирующих добавок для создания ПБВ, которые не только не уступали бы традиционно используемым, но и были бы более экономически выгодными в производстве.

В качестве добавок к битумам для получения ПБВ можно использовать асфальтосмолистые олигомеры (асмолы), получаемые поликонденсацией битумов со смесью диеновых углеводородов производства бутадиена и изопрена в присутствии катализатора [3].



Таблица 1

## Физико-механические характеристики ПБВ

Показатель	Норма для вяжущего марки						Метод испытания
	ПБВ 300	ПБВ 200	ПБВ 130	ПБВ 90	ПБВ 60	ПБВ 40	
Глубина проникания иглы, 0,1 мм, не менее, при температуре: 25 °С 0 °С	300 90	200 70	130 50	90 40	60 32	40 25	По ГОСТ 11501
Растяжимость, см, не менее, при температуре: 25 °С 0 °С	30 25	30 25	30 20	30 15	25 11	15 8	По ГОСТ 11505
Температура размягчения по КиШ, °С, не ниже	45	47	49	51	54	56	По ГОСТ 11506
Температура хрупкости по Фраасу, °С, не выше	-40	-35	-30	-25	-20	-15	По ГОСТ 11507
Эластичность, %, не менее, при температуре: 25 °С 0 °С	85 75	85 75	85 75	85 75	80 70	80 70	По п. 6.2 ГОСТ 52056
Изменение температуры размягчения после прогрева, °С, не более (по абсолютной величине)	7	7	6	6	5	5	По ГОСТ 18180, ГОСТ 11506
Температура вспышки, °С, не ниже	220	220	220	220	230	230	По ГОСТ 4333
Сцепление с мрамором или песком	Выдерживает по контрольному образцу № 2						По ГОСТ 11508, метод А
Однородность	Однородно						По п. 6.1 ГОСТ 52056

В опытно-промышленном применении на российских дорогах использовался ПБВ, состоящий из 80% битума БН 90/130 и 20% полимерно-битумной

мастики, приготовленной на основе асфальтосмолистых олигомеров. Технические характеристики используемого продукта приведены в табл. 2 [4].

Таблица 2

## Технические характеристики ПБВ на основе асмолы и битума БН 90/130

Показатель	Значение
Температура размягчения по методу КиШ, °С	47–51
Глубина проникания иглы, 0,1 мм: при 25 °С при 0 °С	50–70 20–30
Растяжимость, см: при 25 °С при 0 °С	90 12
Температура хрупкости, °С	-14
Температура вспышки, °С, более	230
Сцепление с мрамором и песком	Соответствует контрольному образцу
Однородность	Однородно

В нашей работе для приготовления ПБВ использовался битум нефтяной дорожный вязкий БНД 60/90 [5]. Физико-механические показатели

ПБВ, полученные из битума БНД 60/90 в смеси с 20 % мастикой, изготовленной на основе асфальтосмолистых олигомеров, приведены в табл. 3.



Таблица 3

**Технические характеристики ПБВ, полученного из битума БНД 60/90, и асфальтосмолистого олигомера, полученного из битума БНД 60/90**

Показатель	Значение
Внешний вид	Соответствует
T <sub>p</sub> по КиШ, °С	56
T <sub>хр</sub> по Фраасу, °С, не выше	-15
Пенетрация (глубина проникания иглы), 0,1 мм	40
Температура вспышки, °С, не менее	230
Растяжимость, см	15
Эластичность, %	80
Изменение T <sub>p</sub> после прогрева, °С	5
Сцепление с мрамором или песком	Соответствует образцу № 2
Однородность	Однородно

Как следует из табл. 3, полученный продукт соответствует ПБВ-40 по ГОСТ Р 52056-2003.

Известно, что в результате переработки нефти образуются отходы, которые не находят широкого промышленного применения, более того, являются загрязнителями окружающей среды. Одними из таких отходов являются асфальты, получаемые на нефтеперерабатывающих заводах в процессе изготовления нефтяных масел из нефти. В данной работе показана возможность применения асфальтов в качестве альтернативы дорогостоящему битуму при использовании его в процессе приготовления полимерно-битумных мастик на основе асфальтосмолистых олигомеров, и, соответственно, при приготовлении ПБВ, используемых в дорожном строительстве.

Технические характеристики используемого в испытаниях асфальта приведены в табл. 4.

Таблица 4

**Физико-механические параметры асфальта**

Показатель	Значение
Плотность, г/см <sup>3</sup>	1,006–1,009
Температура размягчения по КиШ, °С	30–31,5
Вязкость при 100 °С, сСт	12,56
Температура вспышки, °С, не менее	230
Условная вязкость по ВУМ при 80 °С, с	52,4

Приготовленную из асфальта мастику компаундировали с битумом дорожным марки БНД 60/90 в разных соотношениях для получения ПБВ. Опытным путём выявлено, что наилучшими свойствами обладают композиции, содержащие 8–10% мастики. Физико-механические свойства полученных продуктов приведены в табл. 5. Из табл. 5 видно, что характеристики полученных ПБВ соответствуют ПБВ-40.

Таблица 5

**Физико-механические параметры полученных ПБВ**

Показатель	ПБВ					
	1	2	3	4	5	6
Внешний вид	Соответствует					
T <sub>p</sub> по КиШ, °С	65	58,5	58,7	56	58	60
T <sub>хр</sub> по Фраасу, °С, не выше	-10	-10	-15	-15	-12	-12
Пенетрация 0,1 мм	47,5	46,3	57,7	53	51,3	47,7
Температура вспышки, °С, не менее	230	230	230	230	230	230
Растяжимость, см	16,5	29,5	21,5	23,5	21,8	33
Эластичность, %	80	80	Норма	Норма	Норма	
Изменение T <sub>p</sub> после прогрева, °С	В пределах нормы или не изменяется					
Сцепление с мрамором или песком	Соответствует образцу					
Однородность	Однородно					



Таким образом, полученные из отходов нефтепереработки асфальто-смолистые олигомеры не уступают по своим свойствам аналогичным, использовавшимся ранее в опытно-промышленном применении при дорожном строительстве. Более того, по некоторым показателям, в частности по степени адгезии к минеральным материалам, новые продукты превосходят ранее применяемые, а также лучше сохраняют свои свойства (дуктильность, пенетрацию и температуру размягчения) после прогрева при 163°C в течение 5 часов. Вместе с тем они являются более экономичными и могут быть рекомендованы в качестве модифицирующей добавки в дорожные битумы для получения ПБВ высокого качества.

#### Список литературы

1. Широкова Т. С. Средство от колеи // Дорожная держава. 2010. Спец. вып. С. 42–48.
2. ГОСТ Р 52056-2003. Вяжущие полимерно-битумные дорожные на основе блок-сополимеров типа стирол-бутадиен-стирол. М., 2003.
3. Черкасов Н. М. и др. Асмор и новые изоляционные материалы для подземных трубопроводов. М. : Недра, 2005. 205 с.
4. ТУ 5623-005-16802026-96. Битумно-асмольное вяжущее для дорожного строительства «Битар». М., 1996.
5. ГОСТ 22245-90. Битумы нефтяные дорожные вязкие. М., 1990.

УДК 543.4

## СОВМЕСТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОФЕИНА, АСПАРТАМА И САХАРИНА В ГАЗИРОВАННЫХ НАПИТКАХ МЕТОДАМИ ЯМР <sup>1</sup>H И УФ-СПЕКТРОСКОПИИ С АВТОМОДЕЛЬНЫМ РАЗДЕЛЕНИЕМ КРИВЫХ



Ю. Б. Монахова, А. М. Цикин, Ф. М. Исакова, С. П. Муштакова

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

Разработаны простые и надежные методики анализа смесей кофеина, сахарина и аспартама, основанные на УФ и ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии. Метод ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии использован для проведения скрининг-анализа образцов газированных напитков различных марок. Альтернативный метод, основанный на сочетании электронной спектроскопии и хемометрического метода независимых компонент, также применен для экспрессного и надежного определения компонентов газированных напитков без их предварительного разделения. Методом УФ-спектроскопии изучены спектроскопические характеристики стандартных растворов кофеина, сахарина, аспартама и реальных прохладительных напитков (влияние среды, интервалы подчинимости закону Бугера–Ламберта–Бера). Проведено качественное и количественное спектроскопическое определение компонентов газированных напитков различных марок с относительной погрешностью, не превышающей 10%.

**Ключевые слова:** хемометрика, автомоделное разделение кривых, метод независимых компонент.

**Joint Determination Of caffeine, Aspartame and Saccharin in Carbonated Beverages by <sup>1</sup>H NMR and UV Spectroscopy with Self-modeling Curve Resolution**

Yu. B. Monakhova, A. M. Tsikin,  
Ph. M. Isakova, S. P. Mushtakova

Simple and reliable methods of caffeine, saccharin and aspartame mixtures analysis based on UV and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy were

implemented. <sup>1</sup>H NMR spectroscopy method was used for screening test of carbonated beverages samples of various brands. An alternative method based on a combination of electron spectroscopy and chemometric independent component method was also used for the rapid and reliable carbonated beverages components determination without their prior separation. By UV spectroscopy the spectroscopic characteristics of the caffeine, saccharin, aspartame and real soft drinks standard solutions were studied (the influence of the environment, the intervals of Bouguer–Lambert–Berlaw obedience). The carbonated drinks different brands components qualitative and quantitative spectroscopic identification was made with the relative error not exceeding 10%.

**Key words:** chemometrics, self-modeling curve resolution, independent component method.

Проблема анализа смесей веществ, близких по структуре и свойствам, является весьма сложной и актуальной в современной аналитической практике. Основной метод анализа таких смесей – хроматографический, как в варианте газовой, так и жидкостной хроматографии. Достаточно дорогое оборудование, как правило, сложная пробоподготовка и поиск оптимальных условий хроматографирования не всегда позволяют достичь желаемой цели.



Более доступная спектроскопия в классическом ее варианте также практически не представляет возможности анализировать сложные смеси. Одновременному определению нескольких аналитов из одной пробы в большинстве случаев препятствуют перекрывающиеся полосы в спектрах многокомпонентных смесей. При этом классические препаративные методы разделения смесей часто оказываются длительными и трудоемкими и могут не обеспечить желаемого качества разделения.

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) является одним из самых успешных и универсальных методов анализа сложных многокомпонентных смесей в настоящее время [1]. Благодаря своей высокой селективности (по сравнению с другими спектроскопическими методами), использованию многомерных методик регистрации спектров (J-resolved, NOESY, COSY и т.д.) и возможности наблюдать в спектре практически любое органическое вещество, этот метод стал часто использоваться в анализе сложных матриц [2–6].

Однако высокая стоимость ЯМР анализа и его недостаточная чувствительность для анализа микрокомпонентов развивают исследования в альтернативном направлении, а именно математическом моделировании данных других типов спектроскопического эксперимента. В этом случае могут использоваться более дешевые и простые спектроскопические методы, например: электронная спектроскопия поглощения и испускания, ИК-спектроскопия [7]. Речь идет о так называемом автоматическом разделении кривых (Self-modeling Curve Resolution, SMCR), главная задача которого заключается в том, чтобы, имея экспериментальную информацию о многокомпонентной системе, выделить реальный спектроскопический сигнал и оценить концентрацию каждого компонента без использования физико-химической модели или априорной информации о системе. Одним из перспективных методов решения задачи о «слепо» разделении сигналов смесей является анализ независимых компонент (Independent Component Analysis, ICA) [8]. Заслуживает внимания недавно разработанный, но уже успешно апробированный на ряде систем алгоритм Mutual Information Least Dependand Component Analysis (MILCA), который отличает точность прогноза численных оценок спектров соединений и их концентраций [9–12].

В настоящее время нами активно ведутся работы по дальнейшей апробации метода независимых компонент для анализа сложных матриц.

Объектом данного исследования стали прохладительные напитки, анализ которых традиционно осуществляется методами УФ [13], ИК [14, 15], ЯМР [16] спектроскопии, хроматографии [17, 18], каждый из которых не лишен недостатков. В связи с этим разработка простых методов анализа данной группы напитков представляет собой несомненный практический интерес.

Таким образом, в данной работе мы представляем результаты сравнения метода ЯМР  $^1\text{H}$  и электронной спектроскопии для совместного определения веществ в газированных напитках (Coca-cola, Pepsi). Для исследования были выбраны наиболее распространенные компоненты газированных напитков – кофеин, аспартам и сахарин.

### Экспериментальная часть

**Реагенты и пробоподготовка.** Растворы стандартов кофеина, сахарина и аспартама готовили по точной навеске растворением в дистиллированной воде ( $10^{-2}$  М для электронной и 1000 мг/л для ЯМР спектроскопии) с последующим разбавлением до рабочих концентраций. Газированные напитки марок Coca-cola и Pepsi были куплены в магазинах Германии (Карлсруэ) и России (Саратов). Непосредственно перед анализом образцы газированных напитков подвергли дегазации в течение 10 минут. Для регистрации спектров в УФ-области смешивали 600 мкл напитка с дистиллированной водой в колбе на 25 мл. В целях количественного анализа также регистрировали спектры поглощения растворов со стандартными добавками сахарина ( $1.0 \cdot 10^{-4}$  М и  $2.0 \cdot 10^{-4}$  М).

Буфер для ЯМР измерений готовили, растворяя 10.21 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  и 9.75 мг  $\text{NaN}_3$  в 50 мл дистиллированной воды, а затем устанавливали точное значение  $\text{pH}=4.0$  титрованием. Для регистрации спектров 800 мкл дегазированного напитка смешивали с 100 мкл внутреннего стандарта (0.1% ТСП (натриевая соль 3-(триметилсилил) пропионовой кислоты-d4)) и 101 мкл буферного раствора ( $\text{pH}$  4.0).  $\text{pH}$  смеси, равное 4.50, контролировали, добавляя 1-2 мкл  $\text{HCl}$  (1 М) и/или  $\text{NaOH}$  (1 М).

**Инструментальное оформление.** УФ-спектры регистрировали на спектрофотометрах СФ-103 и SHIMADZU-1800 в кварцевых кюветах с толщиной оптического слоя 1 см, в спектральном диапазоне 190–400 нм и шагом сканирования 1 нм.

ЯМР измерения проводились на спектрометре Брукер 400 МГц (Bruker Biospin, Reinstetten, Germany). ЯМР  $^1\text{H}$  спектры были получены при температуре 300.0 К. При регистрации спектров



использовали 128 основных и 4 предварительных циклов сканирования. Ширина каждого спектра составила 20.0234 м.д., который содержит 65 тысяч точек. Время каждого импульса равнялось 10 с. Подавление синглета воды (макрокомпонента безалкогольных напитков) было достигнуто с помощью импульсной программы NOESY.

Спектры регистрировали автоматически под контролем ICONNMR (Bruker Biospin, Reinstetten, Germany), которое занимало около 30 минут для каждого образца. Коррекция фазы и базовой линии ЯМР спектров, а также интегрирование сигналов были проведены с помощью программы Topspin v. 3.1 (Bruker Biospin, Reinstetten, Germany).

**Хемометрические расчеты.** Программа, реализующая алгоритм MILCA, доступна в виде независимых исполняемых модулей для платформ Windows и Linux и с MATLAB интерфейсами на веб-сайте <http://www.klab.caltech.edu/~kraskov/MILCA/>. Время декомпозиции спектров смесей во всех случаях не превышало 5 мин.

Для оценки сходства нормированных выделенных и эталонных спектров соединений использовали коэффициент корреляции ( $R$ ). Значения коэффициента находятся в интервале  $[0, 1]$  и максимальны в случае полного совпадения сравниваемых спектров.

Для расчета сходства экспериментальной и расчетной матриц концентраций использовали индекс Амари [12]. При практическом использовании данного индекса эмпирически считают, что декомпозиция прошла успешно, если численное значение  $P < 0.05$ , а значения  $P > 0.2$  характеризует неприемлемое качество декомпозиции. Все полученные данные обрабатывали методами математической статистики при доверительной вероятности  $P = 0.95$ .

### Результаты и их обсуждение

**УФ-спектроскопия.** Для того чтобы качественно и количественно определить компоненты газированных напитков, необходимо знать их характеристичные полосы, которые, по возможности, не будут перекрываться с сигналами других компонентов. Для этого регистрировали спектры растворов стандартных веществ (кофеина, аспартама, сахарина) в воде (рис. 1). В серии предварительных экспериментов было установлено, что спектры поглощения как изучаемых веществ, так и реальных объектов не изменяются при переходе в кислую среду (рН 1.0–3.0), поэтому вода была выбрана в качестве растворителя во всех последующих экспериментах.

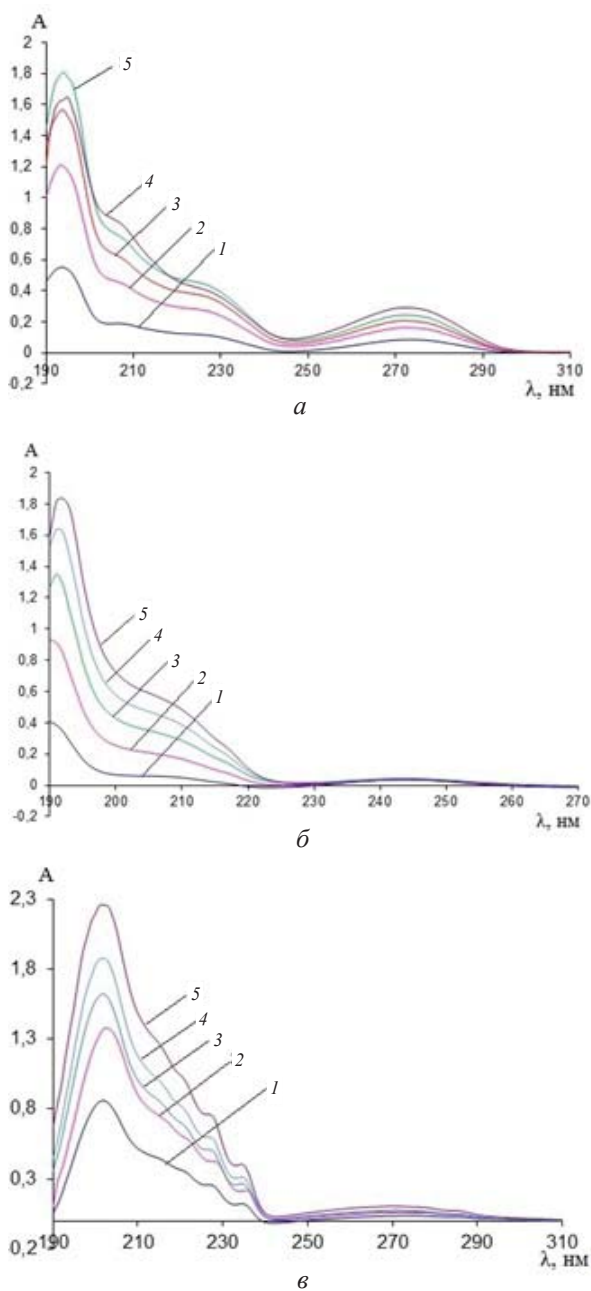


Рис. 1. Спектры поглощения растворов: а – кофеина (1 – 4.0, 2 – 8.0, 3 – 10, 4 – 12, 5 – 14 ( $\cdot 10^{-4}$  М)); б – аспартама (1 – 1.0, 2 – 2.0, 3 – 3.0, 4 – 4.0, 5 – 5.0 ( $\cdot 10^{-5}$  М)); в – сахарина натрия (1 – 3.0, 2 – 4.0, 3 – 5.0, 4 – 6.0, 5 – 7.0 ( $\cdot 10^{-5}$  М))

Также определены интервалы подчинимости закону Бугера–Ламберта–Бера, пределы обнаружения (ПО) и нижние границы определяемых содержаний (НГОС) для всех трех соединений (табл. 1). Методами математической статистики установлено, что метод не содержит систематической погрешности. Из полученных данных очевидно, что методика определения кофеина, аспартама, сахарина должна отличаться высокой чувствительностью, воспроизводимостью и точностью.





Таблица 1

**Метрологические характеристики методики определения кофеина, аспартама и сахарина методом УФ-спектроскопии**

Параметр	Кофеин ( $\lambda = 205$ нм)	Аспартам ( $\lambda = 207$ нм)	Сахарин ( $\lambda = 271$ нм)
Диапазон линейности градуировочного графика, моль/л	$1.0 \cdot 10^{-4} - 1.4 \cdot 10^{-3}$	$2.0 \cdot 10^{-6} - 5.0 \cdot 10^{-5}$	$2.0 \cdot 10^{-6} - 7.0 \cdot 10^{-5}$
ПО, моль/л	$7.0 \cdot 10^{-5}$	$9.0 \cdot 10^{-7}$	$1.0 \cdot 10^{-6}$
НГОС, моль/л	$2.0 \cdot 10^{-4}$	$3.0 \cdot 10^{-6}$	$3.0 \cdot 10^{-6}$
Коэффициент вариации ( $n = 5$ ), %	5	6	4

Однако после детального изучения УФ-спектроскопического поведения водных растворов изучаемых веществ было установлено, что их совместное определение не представляется возможным, так как невозможно подобрать аналитическую длину волны для каждого соединения, при которой не поглощают другие компоненты (см. рис. 1). Интерпретация электронных спектров безалкогольных напитков еще более усложняется с появлением в смеси других компонентов матрицы.

Для решения этой проблемы был применен метод независимых компонент, а именно алгоритм MILCA, для математического разделения спектров смесей. Для апробации алгоритма проведена декомпозиция спектров поглощения двух- и трехкомпонентных модельных смесей – кофеин-сахарин и кофеин-сахарин-аспартам. В первом случае погрешность определения положения максимумов полос поглощения для индивидуальных соединений не превышала  $\pm 1$  нм (коэффициенты корреляции между выделенными и экспериментальными спектрами 0.99–1.0), Амари индекс оказался равным 0.07, что указывает на успешное разделение спектров компонентов [11, 12] и возможность количественного определения компонентов с относительной ошибкой не более 8%. Результаты разделения спектров более сложной трехкомпонентной системы кофеин-сахарин алгоритмом MILCA приведены на рис. 2, при этом Амари индекс составил 0.08. Таким образом, с помощью алгоритма MILCA удалось решить проблему сильноперекрывающихся полос, смоделировать спектры индивидуальных соединений и провести надежное количественное определение кофеина, сахарина и аспартама в модельных смесях при их совместном присутствии.

Ранее алгоритм MILCA применен для спектроскопического анализа смесей самого различного состава в УФ и видимой области спектра: ароматических и полиароматических

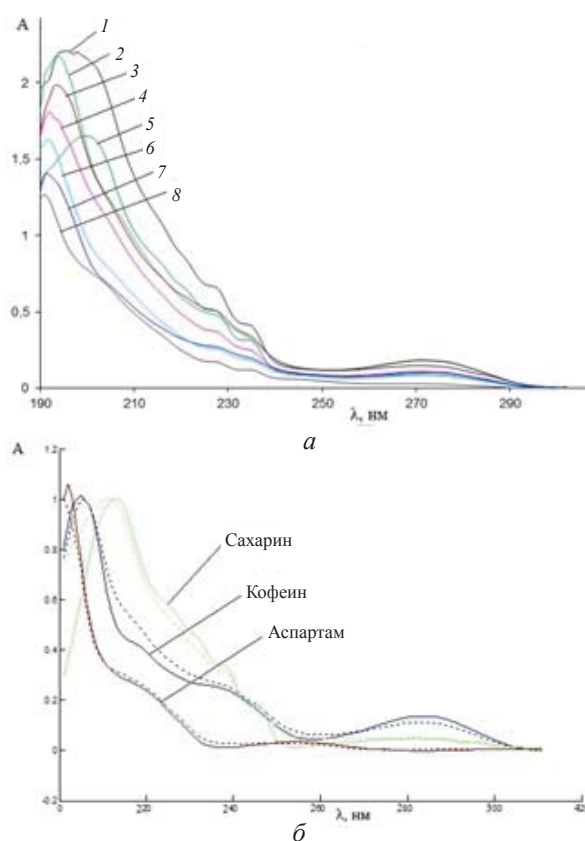


Рис. 2. Спектры поглощения смесей кофеин-сахарин-аспартам в различном соотношении (а):  $c_{\text{кофеин}} : c_{\text{сахарин}} : c_{\text{аспартам}} = 1 : 2 : 2$  (1);  $2 : 1 : 1$  (2);  $4 : 2 : 1$  (3);  $1 : 1 : 1$  (4);  $1 : 4 : 1$  (5);  $2 : 1 : 2$  (6);  $2 : 1 : 1$  (7);  $1 : 2 : 4$  (8); (б) – выделенные (.....) и экспериментальные (—) спектральные контуры веществ ( $R = 0.99$  для кофеина; 0.96 для сахарина; 1.0 для аспартама)

углеводородов [12], аминокислот [12], витаминов [11], алкогольной продукции [19] и металлов в биологически активных добавках и сплавах [20, 21]. В данной работе мы расширили диапазон анализируемых матриц на газированные напитки. Можно заключить, что подобная универсальность хемометрического подхода, несомненно, открывает широкие перспективы для использования его в различных областях.



**ЯМР спектроскопия.** Метод ЯМР спектроскопии является одним из лучших методов контроля качества различных напитков, включая фруктовые соки [22, 23], пиво [24] и вино [25, 26]. Однако анализу газированных напитков посвящено незначительное число работ [5, 16, 27], только одна из которых является систематическим изучением возможности проведения количественного анализа компонентов газированных напитков [5]. ЯМР спектр образцов колы богат неперекрывающимися сигналами разнообразных компонентов матрицы (рис. 3), поэтому одновременное количественное определение кофеина, ацесульфата калия, аспартама, цикломата натрия, бензоата натрия, 5- гидроксиметилфурфуrolа, карамельный колер (сульфит аммиака – E 150D) и ванилина стало возможным без применения специализированных хемометрических алгоритмов [5].

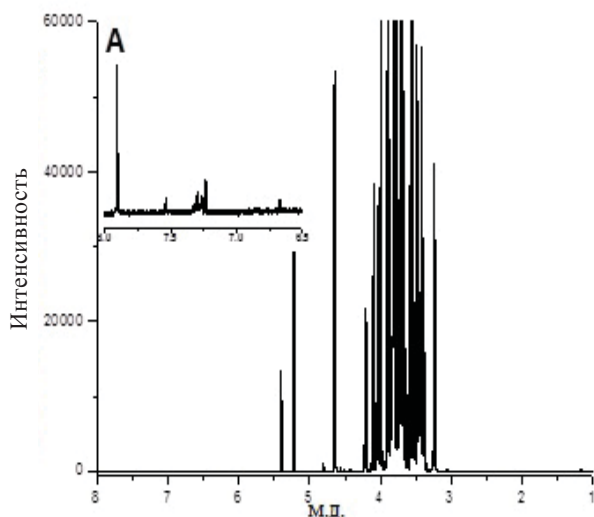


Рис. 3. ЯМР <sup>1</sup>H спектр образца сахаросодержащей колы

Было установлено, что из более чем 100 исследованных образцов из Франции и Германии ни один не содержал сахарин, который имеет сигнал в слабом поле (7.90–7.87 м.д.). Наши исследования подтвердили, что сахарин не используется в качестве подсластителя в образцах, произведенных в России. Результаты валидации ЯМР для определения двух других веществ – кофеина и аспартама – приведены в табл. 2. Можно отметить широкий диапазон линейной зависимости концентрации веществ от интенсивности сигнала, что дает возможность изучать различные объекты. ПО и НГОС составили 1.7 мг/л и 5.3 мг/л для кофеина и 2.9 мг/л и 8.8 мг/л для аспартама. соответственно. Воспроизводимость методики для стандартов составила менее 5%, а для реальных образцов менее 9%. Точность методики по методу «введено-найдено» составила 100–107% (см. табл. 2).

Таким образом, спектроскопия ЯМР является эффективным инструментом для одновременной идентификации и количественного анализа безалкогольных напитков.

**Анализ реальных объектов.** Несомненный интерес представляет сравнение двух разработанных методик и применение их к анализу реальных объектов.

При проведении анализа в УФ-области регистрировали спектры поглощения газированных напитков марок Coca-cola и Pepsi в дистиллированной воде без и с растворами стандартными добавками сахарина (стандартные добавки необходимы для расчета абсолютных концентраций кофеина и аспартама). В качестве примера на рис. 4 представлены подобные экспериментальные спектры для образца колы и выделенные спектры соединений.

Таблица 2

Валидация ЯМР методики определения выбранных веществ

Вещество		Кофеин 7.91–7.88 м.д. (синглет)	Аспартам 3.11–3.03 м.д. (мультиплет)
ПО, мг/л		1.7	2.9
НГОС, мг/л		5.3	8.8
Диапазон линейности, мг/л		1–500	3–350
Воспроизводимость, %	Стандартный раствор	4.2 (108 мг/л)	1.0 (240 мг/л)
	Реальный образец	1.6(100 мг/л)	8.8 (390 мг/л)
Точность (метод «введено-найдено»)		100(101 мг/л)	107 (100 мг/л)

Значения коэффициентов корреляции, как и в случае модельных смесей, свидетельствуют о

высоком качестве и надежности декомпозиции электронных спектров методом MILCA.

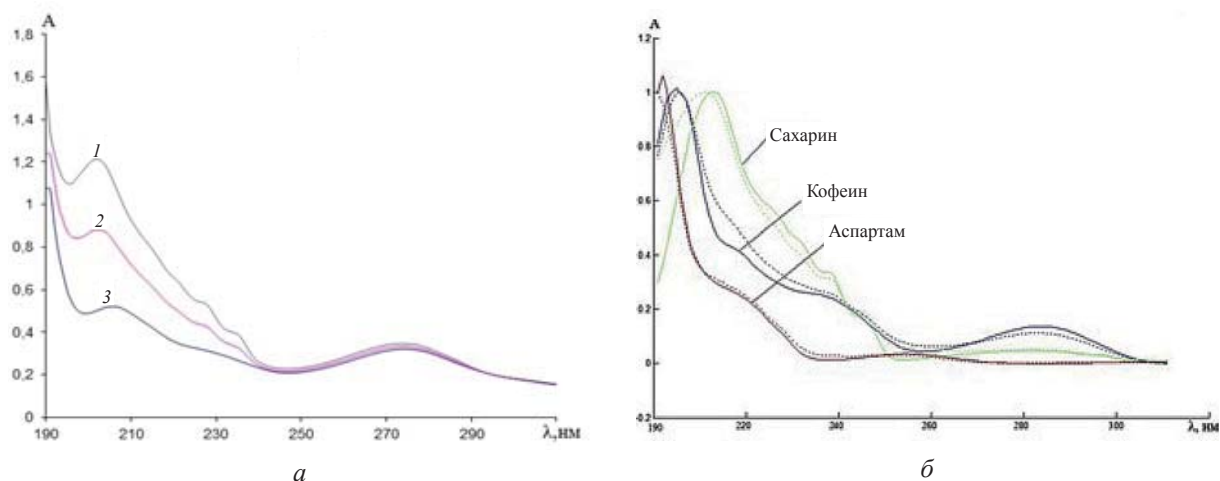


Рис. 4. Спектры поглощения растворов Coca-Cola (*a*) без (1) и со стандартными добавками сахарина в концентрации  $1.0 \cdot 10^{-4}$  M (2) и  $2.0 \cdot 10^{-4}$  M (3); *б* – выделенные (.....) и экспериментальные (—) спектральные контуры веществ ( $R = 0.98$  для кофеина;  $0.95$  для сахарина;  $1.0$  для аспартама)

Помимо идентификации кофеина и аспартама также был проведен количественный анализ этих соединений (табл. 3). Полученные результаты согласуются с данными ЯМР спек-

троскопии в пределах погрешности экспериментов (по  $t$  и  $F$  критерию). Кроме того, методом УФ-спектроскопии подтверждено отсутствие сахарина в исследуемых образцах.

Таблица 3

Результаты определения кофеина и аспартама в газированных безалкогольных напитках различных марок ( $n = 3$ ,  $p = 0.95$ ), мг/л

Образец	Кофеин		Аспартам		Сахарин
	УФ	ЯМР	УФ	ЯМР	
Coca-cola (Германия)	89±4	93±6	128±8	135±7	Не обнаружен
Coca-cola (Россия)	109±7	113±10	119±5	125±8	Не обнаружен
Pepsi (Германия)	98±4	106±6	0	0	Не обнаружен

Можно заключить, что оба метода, основанные на ЯМР и УФ спектроскопии, отличаются хорошей точностью, воспроизводимостью и надежностью (см. табл. 3). Сигналы аспартама, кофеина и сахарина в ЯМР спектрах полностью отделены от других компонентов матрицы, что делает возможным их определение с помощью простого интегрирования, не прибегая к специализированным математическим методам. При этом, однако, сравнение результатов валидации обоих методик (см. табл. 1, 2) показывает, что метод УФ-спектроскопии на несколько порядков чувствительнее метода ЯМР. К тому же, моделирование спектров методом независимых компонент занимает всего несколько минут и, очевидно, не сильно усложняет процедуру анализа. Метод УФ-спектроскопии также доступен в любой аналитической лаборатории, поэтому разработанная нами методика может быть вне-

дрена и широко востребована в аналитической практике.

Таким образом, в работе показано, что метод независимых компонент представляет собой высокоэффективный метод, который позволяет сделать возможным использование простого и доступного метода электронной спектроскопии в случае, если спектральные кривые аналитов перекрываются между собой. Уникальное сочетание современных спектроскопических методов (ЯМР и электронная спектроскопия) и современных вычислительных программ позволяет провести экспрессное количественное спектроскопическое определение компонентов газированных напитков без их предварительного разделения с удовлетворительной погрешностью. Разработанный подход дает возможность улучшить эффективность определения кофеина и аспартама в производственных и контролирующих лабораториях.



## Список литературы

1. *Le Gall G., Colquhoun I. J.* NMR Spectroscopy in food authentication (in Food authenticity and traceability). N.Y. : Woodhead Publishing, 2003. P. 131
2. *Monakhova Y. B., Kuballa T., Leitz J., Andlauer C., Lachenmeier D. W.* NMR spectroscopy as a screening tool to validate nutrition labeling of milk, lactose-free milk, and milk substitutes based on soy and grains // *Dairy Science and Technology*. 2012. Vol. 92. P. 109–120.
3. *Monakhova Y. B., Kuballa T., Lachenmeier D. W.* (2012) Rapid quantification of ethyl carbamate in spirits using NMR spectroscopy and chemometrics ISRN Analytical Chemistry. Vol. 2012, Article ID 989174, Doi:10.5402/2012/989174.
4. *Walch S. G., Lachenmeier D. W., Kuballa T., Stuhlinger W., Monakhova Y. B.* Holistic control of herbal teas and tinctures based on sage (*Salvia officinalis*L.) for compounds with beneficial and adverse effects using NMR spectroscopy // *Analytical Chemistry Insights*. 2012. Vol. 7. P. 1–12.
5. *Maes P., Monakhova Y. B., Kuballa T., Reusch H., Lachenmeier D. W.* Qualitative and quantitative control of carbonated cola beverages using <sup>1</sup>H NMR Spectroscopy // *J. Agric. Food Chem.* 2012. Vol. 60(11). P. 2778–2784.
6. *Monakhova Y. B., Kuballa T., Lachenmeier D. W.* Nontargeted NMR analysis to rapidly detect hazardous substances in alcoholic beverages // *Applied Magnetic Resonance*. 2012. Vol. 42(3). P. 343–352.
7. *Монахова Ю. Б., Астахов С. А., Муштакова С. П., Грибов Л. А.* Методы декомпозиции спектров различной природы в анализе смесей сложного состава // *Журн. аналит. химии*. 2011. Т. 66, № 4. С. 361–372.
8. *Hyyärinen A., Karhunen J., Oja E.* Independent Component Analysis. Wiley ; N.Y., 2001. 481 p.
9. *Kraskov A., Stögbauer H., Grassberger P.* Estimating mutual information // *Phys. Rev. E*. 2004. Vol. 69. P. 066138.
10. *Stögbauer H., Kraskov A., Astakhov S. A., Grassberger P.* Least dependent component analysis based on mutual information // *Phys. Rev. E*. 2004. Vol. 70. P. 066123.
11. *Monakhova Yu. B., Kolesnikova S. S., Mushtakova S. P., Astakhov S. A.* Chemometrics-assisted spectrophotometric method for simultaneous determination of vitamins in complex mixtures // *Anal. Bioanal. Chem.* 2010. Vol. 397. P. 1297–1306.
12. *Monakhova Yu. B., Astakhov S. A., Kraskov A. V., Mushtakova S. P.* Independent components in spectroscopic analysis of complex mixtures // *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 2010. Vol. 103. P. 108–115.
13. *McDevitt V. L., Rodriguez A., Williams K. R.* Analysis of Soft Drinks: UV Spectrophotometry, Liquid Chromatography and Capillary Electrophoresis // *J. Chem. Educ.* 1998. Vol. 75(5). P. 625.
14. *Paradkar M. M., Irudayaraj J.* Rapid determination of caffeine content in soft drinks using FTIR-ATR spectroscopy // *Food. Chem.* 2002. Vol. 78. P. 261–266.
15. *Khuranai H. K., Cho I. K., Shim J. Y., Li Q. X., Jun S.* Application of Multibounce Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Chemometrics for Determination of Aspartame in Soft Drinks // *J. Agric. Food. Chem.* 2008. Vol. 56(3). P. 778–783.
16. *Charlton A. J., Robb P., Donarski J. A., Godward J.* Non-targeted detection of chemical contamination in carbonated soft drinks using NMR Spectroscopy, variable selection and Chemometrics // *Analytica Chimica Acta*. 2008. Vol. 618. P. 196–203.
17. *Delaney M. F., Pasko K. M., Gsell D. S., Korologos P. C., Morawski J., Krolikowski L. J., Warren F. V.* Determination of Aspartame, Caffeine, Saccharin, and Benzoic Acid in Beverages by High Performance Liquid Chromatography // *J. Chem. Educ.* 1985. Vol. 62 (7). P. 618.
18. *Makawi S. Z. A., Taha M. I., Zakaria B. A., Siddig B., Mahmood H., Elhussein A. R. M., Gadkariem E. A.* Identification and Quantification of 5-Hydroxymethyl Furfural HMF in some Sugar-containing Food Products by HPLC // *Pakistan J. Nutrition*. 2009. Vol. 8(9). P. 1391–1396.
19. *Monakhova Y. B., Kuballa T., Leitz J., Lachenmeier D. W.* Determination of diethyl phthalate and polyhexamethylene guanidine in surrogate alcohol from Russia // *Intern. J. Analyt. Chem.* 2011. Article ID 704795.7 p.
20. *Монахова Ю. Б., Колесникова С. С., Степанов А. Н., Муштакова С. П.* Применение алгоритмов декомпозиции спектров смесей для определения металлов в поливитаминных препаратах // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2011. Т. 77, № 7. С. 25–30.
21. *Колесникова С. С., Монахова Ю. Б., Муштакова С. П.* Алгоритмы декомпозиции спектров смесей в анализе сплавов // *Аналитика и контроль*. 2012. Т. 16, № 2. С. 203–209.
22. *Belton P. S., Colquhoun I. J., Kemsley E. K., Delgadillo I., Roma P., Dennis M. J., Sharman M., Holmes E., Nicholson J. K., Spraul M.* Application of chemometrics to <sup>1</sup>H NMR spectra of apples juices: discrimination between apple varieties // *Food Chem.* 1998. Vol. 61, № 1/2. P. 207–2213.
23. *Le Gall G., Puaud M., Colquhoun I. J.* Discrimination between orange juice and pulp wash by <sup>1</sup>H nuclear magnetic resonance spectroscopy : Identification of marker compounds // *J. Agric. Food Chem.* 2001. № 49. P. 580–581.
24. *Duarte I. F., Barros A., Almeida C., Spraul M., Gil A. M.* Multivariate analysis of NMR and FTIR data as a potential tool for the quality control of beer // *J. Agric. Food Chem.* 2004. Vol. 52, № 5. P. 1031–1038.
25. *Arvanitoyannis I. S., Katsota M. N., Psarra E. P., Soufleros E. H., Kallithraka S.* Application of quality control methods for assessing wine authenticity : Use of multivariate analysis (chemometrics) // *Trends Food Sci. Technol.* 1999. Vol. 10, № 10. P. 321–336.
26. *Flemming H. L., Van den Berg F., Engelsen S. B.* An exploratory chemometric study of <sup>1</sup>H NMR spectra of table wines // *J. Chem.* 2006. № 20. P. 198–208.
27. *Wilson A., Myers C., Crull G., Curtis M., Patterson P. P.* Analysis of soft drinks using Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy : A Mentorship // *J. Chem. Educ.* 1999. Vol. 76 (10). P. 1414–1416.



## БИОЛОГИЯ

УДК 579.222.2:574.24

### СКРИНИНГ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ КОМПОНЕНТОВ БУРОВЫХ РАСТВОРОВ

А. Ю. Беляков, Е. В. Плешакова

Саратовский государственный университет  
E-mail: beland89@mail.ru

Показано, что буровые шламы представляют собой источник специализированных микроорганизмов, способных к утилизации различных компонентов, входящих в состав буровых растворов, включая нефтяные углеводороды, крахмал. Из двух образцов буровых шламов методами прямого высева и накопительного культивирования выделено 8 микробных штаммов с широким субстратным спектром в отношении нефтяных углеводородов различной степени токсичности, что свидетельствует о перспективности использования таких микроорганизмов в биотехнологиях обезвреживания буровых отходов.

**Ключевые слова:** микроорганизмы-деструкторы, буровые растворы на углеводородной и водной основе, буровой шлам, поверхностно-активные вещества, крахмал, карбоксиметилцеллюлоза.

#### Screening of Microorganisms-destructors Components of Drilling Fluids

A.Yu. Belyakov, E. V. Pleshakova

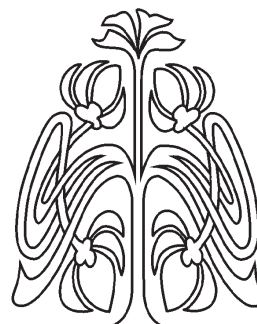
It is shown that the drill cuttings are a source of specialized microorganisms capable of recycling various components that make up the drilling fluids, including oil hydrocarbons and starch. 8 microbial strains with a broad substrate spectrum in of petroleum hydrocarbons of varying degrees of toxicity were isolated from two samples of drill cuttings by direct seeding and cultivation of storage, indicating the perspectivity of using such microorganisms in biotechnology disposal of drilling waste.

**Key words:** microorganisms-destructors, oil-base and water-base drilling fluids, cuttings, surfactants, starch, carboxymethyl cellulose.

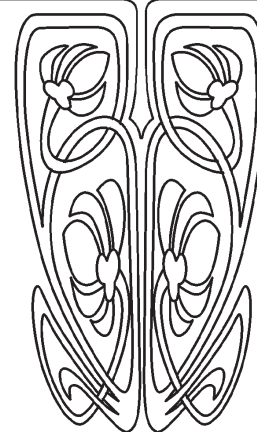
Бурение любой нефтяной и газовой скважины сопровождается применением буровых растворов, состоящих из материалов и химических реагентов различной степени экологической опасности [1].

Для объектов природной среды большую опасность представляют и производственно-технологические отходы бурения, в частности, буровые шламы, токсическое действие которых в случае использования растворов на углеводородной основе (РУО) становится еще более сильным, чем при использовании буровых растворов на водной основе [2].

Буровые шламы представляют собой продукт, состоящий из твердых и жидких компонентов, поступление которых в окружающую среду приводит к ее загрязнению. Образующийся на забое выбуренный шлам взаимодействует с буровым раствором. В результате этого частицы горных пород адсорбируют на поверхности различные компоненты бурового раствора и в таком виде остаются длительное время на буровой площадке, в частности, в шламовых амбарах [3].



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





Анализ литературных источников свидетельствует о том, что существующие технологии обезвреживания буровых отходов являются дорогостоящими, энерго- и трудозатратными, не способствуют образованию экологически безопасных соединений [4]. В связи с этим актуальным является возможность использования микроорганизмов-деструкторов, способных расти и проявлять активную биохимическую деятельность в среде с высоким содержанием углеводов, поверхностно-активных веществ (ПАВ) и полимерных добавок, что в дальнейшем приведет к биодеструкции этих веществ.

Известно, что при разработке способов микробной утилизации различных поллютантов, в том числе компонентов, входящих в состав буровых растворов и шламов, целесообразным является скрининг микроорганизмов-деструкторов в загрязненных местообитаниях, т.к. в таких условиях под воздействием селективного давления формируются микробные штаммы с высоким деструктивным потенциалом [5–7]. Буровые шламы, которые в течение длительного времени находятся на специализированных площадках нефтяных месторождений, также могут служить селективными агентами для образования углеводородоокисляющих микроорганизмов (УОМ), а также бактерий-деструкторов различных компонентов буровых растворов [8, 9].

Цель настоящего исследования состояла в изучении микробных сообществ двух образцов буровых шламов для выявления микроорганизмов-деструкторов химических реагентов, входящих в состав буровых растворов.

### Материалы и методы

Объектами исследований являлись микробные сообщества двух образцов буровых шламов с высоким значением рН ( $pH = 9$ ) и степенью минерализации 15%. Данные образцы были отобраны из нефтяных скважин Восточной Сибири, особенностью которых является холодная геология продуктивных пластов (температура коллектора составляет 12–15°C), аномально низкие пластовые давления и высокое содержание соли NaCl (до 5%).

Буровые шламы были отобраны в процессе строительства скважины с первой ступени очистки бурового раствора. Образцы состояли из выбуренной породы, пропитанной раствором на основе дизельного топлива – (БШ 1), и соленасыщенным раствором на водной основе – (БШ 2). Образец БШ 1 был отобран с глубины 1611 м, БШ 2 – с глубины 1508 м. В первом

образце выбуренная порода была представлена преимущественно песчаником, во втором – доломитом. Общее содержание нефтяных углеводов в образцах определяли ретортным анализом, путем перегонки шлама при  $t = 420$  °С и последующем сборе в мерный цилиндр выпаренного конденсата [10]. Оно составило: в БШ 1 – 6, БШ 2 – 1,2%. Содержание углеводов в БШ 1 было обусловлено, главным образом, потерями бурового раствора со шламом, в частности, углеводородной дисперсионной среды, и попаданием углеводов из продуктивного пласта; в образце БШ 2 наличие углеводов обусловлено потерями со шламом смазывающих агентов, добавляемых в буровой раствор, а также попаданием из продуктивного пласта. Перечисленные выше особенности исследуемых буровых шламов свидетельствовали об уникальности данных экологических ниш для микробиоты и возможности выделения микроорганизмов с оригинальными эколого-функциональными характеристиками, связанными, например, со способностью использовать в качестве единственного источника углерода и энергии углеводородные субстраты и другие химические реагенты.

Для анализа культивируемых аэробных бактерий, входящих в состав микробных сообществ буровых шламов, и обнаружения среди них микроорганизмов-деструкторов различных ксенобиотиков использовали технику прямого посева и метод накопительного культивирования [11].

Накопительное культивирование осуществляли в 250-миллиметровых колбах в 2 повторностях: в 100 мл минеральной среды М9 вносили 1 г бурового шлама [11]. В качестве единственного источника углерода и энергии добавляли предварительно автоклавированные при 1 атм. буровые растворы в концентрации 1% по весу: 1) раствор на основе минерального масла (БР 1) и 2) раствор на основе дизельного топлива (БР 2). Содержимое колб культивировали в течение 10 сут. на качалке при 160 об/мин. Далее готовили пяти- и десятикратные разведения в стерильном физиологическом растворе с последующими посевами в нескольких повторностях на соответствующие питательные и селективные агаризованные среды.

После инкубации посевов при 28 °С через 2–3 сут подсчитывали общее число колоний гетеротрофных микроорганизмов на МПА. Количество бактерий, гидролизующих крахмал, оценивали на крахмало-аммиачной среде [12],



принимая во внимание наличие прозрачных ореолов вокруг выросших колоний после обработки среды раствором Люголя. Целлюлозоразрушающие микроорганизмы учитывали на среде Гетчинсона [13], при этом наличие целлюлозолитической активности у бактерий, гидролизующих карбоксиметилцеллюлозу (КМЦ), определяли по прозрачным зонам вокруг колоний. Количество УОМ оценивали путем подсчета характерных колоний внутри и вокруг нефтяных пятен на поверхности плотной минеральной среды М9, содержащей товарную нефть (0,4 г/л) в качестве единственного источника углерода и энергии [14]. Для учета численности бактерий-деструкторов НПАВ колонии, выросшие на чашках Петри с селективной средой М9 и синтанолом АЦСЭ-12 (0,2 г/л) в качестве НПАВ, обрабатывали реагентом Драгендорфа и по наличию неокрашенных зон вокруг колоний на оранжевом фоне среды судили о присутствии микроорганизмов-деструкторов НПАВ [15].

Прямой высеv бактерий из образцов буровых шламов (1 г) производили непосредственно на ряд вышеперечисленных сред.

При изучении субстратного спектра бактерий в качестве единственного источника углерода и энергии использовали: товарную нефть, вазелиновое масло, дизельное топливо, буровой раствор на основе минерального масла и ряд индивидуальных углеводов: *n*-алканы (гексан, гептан, октан, декан, гексадекан), ароматические соединения (бензол, толуол, ксилол, кумол, нитробензол) и алициклические (циклогексан). Многокомпонентные субстраты стерилизовали отдельно и вносили в агаризованную среду М9 при равномерном перемешивании в момент розлива среды в чашки Петри. Конечная концентрация субстратов составляла 0,4 г/л. Способность микроорганизмов использовать для роста нефть и нефтепродукты определяли с помощью чашечного метода Мак-Кланга, согласно которому отмечалось наличие роста культуры вокруг и внутри капель нефтяного субстрата на поверхности плотной минеральной среды [14].

Способность штаммов к деструкции индивидуальных углеводов (0,4 г/л) определяли с помощью метода лунок [16]. Углеводород вносили в лунку диаметром 8 мм, проделанную стерильным пробочным сверлом в центре агаризованной минеральной среды на чашке Петри. Он равномерно диффундировал в агар и частично испарялся, так что культивирование проводили одновременно и на твердом субстрате, и в паре

углеводородов. Вокруг лунки с субстратом производили штрихом посев культур. О деструкции углеводов судили по интенсивности роста тест-культур на 1–7-е сут инкубации в термостате при 28 °С.

Математическую обработку полученных данных выполняли с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2003.

### Результаты и их обсуждение

В ходе проведенных исследований было показано, что численность гетеротрофных микроорганизмов, выделенных прямым высеvом, в микробных сообществах анализируемых образцов БШ 1 и БШ 2 составляла  $1 \times 10^3$  и  $8,9 \times 10^3$  кл/г соответственно (табл. 1). Нами исследовались только аэробные бактерии микробных сообществ, так как для микробной утилизации буровых шламов, размещенных на специальных территориях (площадках, амбарах и т.д.), предпочтительнее использование аэробных бактерий.

В связи с многокомпонентным составом буровых шламов, включающим, кроме углеводородной основы, различные химические соединения, такие как ПАВ, крахмал, КМЦ и др. для более подробной характеристики микробных сообществ буровых шламов оценивали количество бактерий, гидролизующих крахмал, КМЦ, а также микроорганизмов-деструкторов НПАВ и УОМ.

Как было установлено (см. табл. 1), в образце БШ 2 содержалось: УОМ –  $6,1 \times 10^3$  кл/г и  $8,8 \times 10^2$  кл/г микроорганизмов, гидролизующих крахмал. При этом не обнаруживались микроорганизмы-деструкторы синтаноло АЦСЭ-12 и КМЦ. Микробное сообщество образца БШ 1 не отличалось разнообразием, т.к. здесь не выявлялись в заметном количестве УОМ, деструкторы синтаноло АЦСЭ-12, КМЦ и крахмала.

При выделении бактерий методом накопительного культивирования в качестве единственного источника углерода и энергии использовали углеводородные субстраты, к которым, предположительно, микроорганизмы буровых шламов могли быть частично адаптированы – это буровые растворы на основе минерального масла и дизельного топлива. Данные по общей численности гетеротрофных микроорганизмов и содержанию УОМ, микроорганизмов-деструкторов НПАВ и бактерий, гидролизующих крахмал и КМЦ, полученные при анализе накопительных культур с использованием образцов буровых шламов, представлены в табл. 1.



Таблица 1

## Содержание микроорганизмов различных физиологических групп в буровых шламах

Образец	Методы выделения микроорганизмов	Численность бактерий, кл/г(мл)				
		гетеротрофных	УОМ	гидролизующих крахмал	гидролизующих КМЦ	деструкторов НПАВ
БШ 1	1. Прямой высев	$1,0 \times 10^3 \pm 0,30$	$<50 \pm 0,44$	$<50 \pm 0,00$	$<50 \pm 0,00$	$<50 \pm 0,00$
	2. Накопительное культивирование (+БР 1)	$2,8 \times 10^5 \pm 0,58$	$4,4 \times 10^4 \pm 0,22$	$<50 \pm 0,00$	$<50 \pm 0,00$	$<50 \pm 0,00$
	3. Накопительное культивирование (+БР 2)	$2,0 \times 10^4 \pm 0,22$	$1,1 \times 10^4 \pm 0,44$	$4,3 \times 10^2 \pm 0,42$	$<50 \pm 0,44$	$<50 \pm 0,00$
БШ 2	1. Прямой высев	$8,9 \times 10^3 \pm 0,38$	$6,1 \times 10^3 \pm 0,34$	$8,8 \times 10^2 \pm 0,46$	$<50 \pm 0,54$	$<50 \pm 0,00$
	2. Накопительное культивирование (+БР 1)	$1,4 \times 10^5 \pm 0,38$	$4,3 \times 10^4 \pm 0,45$	$6,9 \times 10^3 \pm 0,58$	$<50 \pm 0,00$	$<50 \pm 0,00$
	3. Накопительное культивирование (+БР 2)	$1,8 \times 10^5 \pm 0,40$	$1,6 \times 10^4 \pm 0,28$	$4,2 \times 10^3 \pm 0,52$	$<50 \pm 0,00$	$<50 \pm 0,00$

Примечание. «<50» означает, что при высеве бактерий из разведения 1:5 микроорганизмы соответствующих групп не обнаруживались.

Результаты экспериментов показали, что добавление в среду культивирования селективных источников питания увеличило количество бактерий ряда вышеперечисленных групп по сравнению с прямым высевом микроорганизмов из буровых шламов. В образце шлама БШ 1 общее содержание гетеротрофных бактерий возросло в 10 раз при культивировании его с буровым раствором на основе дизельного топлива и значительно выше – на два порядка – с раствором на основе минерального масла. Использование данных растворов на углеводородной основе в качестве питательных субстратов способствовало, в значительной степени, развитию группы УОМ. При прямом высеве из данного образца УОМ обнаружить не удалось, тогда как при накопительном культивировании численность УОМ достигла значений:  $1,1 \times 10^4$  и  $4,4 \times 10^4$  кл/мл при введении в среду буровых растворов на основе дизельного топлива и минерального масла соответственно. В образце БШ 1 по сравнению с прямым высевом количество микроорганизмов, гидролизующих крахмал, при культивировании их с модельным раствором на основе дизельного топлива (БР 2) возросло на 2 порядка, при этом добавление бурового раствора на основе минерального масла (БР 1) не повлияло на количество данной группы бактерий.

В образце БШ 2 общая численность гетеротрофных микроорганизмов, так же как и в БШ 1, достигла значений  $10^5$  кл/мл при культивировании его с растворами БР 1 и БР 2, численность

УОМ –  $10^4$  кл/мл, примерно в 10 раз увеличилось количество бактерий, гидролизующих крахмал. Оба буровых раствора, использованных нами в качестве селективных реагентов, в равной степени способствовали развитию микроорганизмов разных групп, содержащихся в шлеме БШ 2, в отличие от образца БШ 1, где буровой раствор на основе минерального масла в большей степени стимулировал рост гетеротрофных бактерий и УОМ.

Следует отметить, что добавки в среду культивирования в виде буровых растворов не стимулировали развитие бактерий-деструкторов НПАВ и КМЦ в обоих образцах буровых шламов, что может быть связано с достаточно низкой концентрацией этих реагентов в составе растворов или их токсичностью.

Таким образом, можно отметить, что аэробные гетеротрофные бактерии содержатся в буровых шламах в разных количествах, что обусловлено, вероятно, особенностями условий окружающей среды, а также различным составом выбуренной породы и, как следствие, наличием различных источников питательных веществ. Среди бактерий, входящих в сообщества буровых шламов, обнаруживаются УОМ, микроорганизмы, гидролизующие крахмал. Это создает предпосылки для выделения из таких сообществ активных деструкторов реагентов буровых шламов и буровых растворов, в том числе опасных для окружающей среды.





В результате проведенных экспериментов из буровых шламов нами были изолированы 8 чистых микробных культур, которые в дальнейшем исследовались более подробно. Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили по результатам изучения морфологии, физиологии и биохимии клеток по определителю бактерий Берджи [17] и на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16S рРНК (г. Москва).

Прямым высеvom из БШ 1 выделили штамм *Bacillus circulans* НШ, из БШ 2 – *Halomonas* sp. ОБР 1 и *Staphylococcus epidermidis* ОБР 2. Методом накопительного культивирования из варианта БШ 1, где в качестве единственного источника углерода был буровой раствор БР 2, выделили: *Bacillus firmus* ОБР 3.1, *Solibacillus silvestris* ОБР 3.2, *Bacillus circulans* ОБР 3.3; при использовании бурового раствора БР 1 из этого образца изолировали *Bacillus firmus* ОБР 1.1; из образца БШ 2 с буровым раствором БР 2 – *Erwinia rhapontici* ОБР 4.1.

В связи с тем что углеводородная составляющая РУО представляет большую экологическую опасность для окружающей среды и требует быстрого и полного разрушения, мы исследовали бактерии, выделенные из микробных сообществ буровых шламов, на способность к деградации нефтяных углеводородов.

Исследуя деструктивный потенциал микроорганизмов, выделенных из буровых шламов, мы выбрали в качестве питательного субстрата, прежде всего, буровой раствор на основе минерального масла, а также нефтепродукты, которые часто являются дисперсионной средой РУО – это нефть, дизельное топливо, вазелиновое масло. Также в качестве единственного источника углерода и энергии для микроорганизмов в минеральную среду вносили ряд индивидуальных углеводородов: *n*-алканы (гексан, гептан, октан, декан, гексадекан), ароматические (бензол, толуол, ксилол, кумол, нитробензол) и алициклические (циклогексан) соединения. Полученные данные отражены в табл. 2.

Таблица 2

Субстратный спектр исследуемых микроорганизмов

Субстрат	Оценка роста штаммов							
	<i>Bacillus firmus</i> ОБР 1.1	<i>Bacillus firmus</i> ОБР 3.1	<i>Solibacillus silvestris</i> . ОБР 3.2	<i>Bacillus circulans</i> ОБР 3.3	<i>Erwinia rhapontici</i> ОБР 4.1	<i>Halomonas</i> sp. ОБР 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ОБР 2	<i>Bacillus circulans</i> НШ
Буровой раствор	+	+	+	+	+	+	+	+
Нефть	+	+	+	+	+	+	+	+
Вазелиновое масло	+	+	-	+	+	+	-+	+
Дизельное топливо	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>n</i> -алканы: Гексан	+–	+–	+	+	+–	+–	-	+–
Гептан	+–	+	+	+–	+	+	-	+
Октан	+–	+–	+	+–	-	-	+–	+–
Декан	+–	+–	+	+	+–	+–	-+	+–
Гексадекан	+	+	+	+	-	+–	-	+
Ароматические углеводороды: Бензол	-+	+	+	+	-+	-+	-+	-+
Толуол	+	-+	-	+–	-	-	-	-+
Ксилол	-+	+	-	+	-+	-+	+	+
Кумол	-	-	-	-	-	-	-	-
Нитробензол	+–	-	-	-	-	-+	-+	-
Нафты: Циклогексан	-	-+	-	-	-	-	-+	-

Примечание. «-» – отсутствие роста; «-+» – едва выраженный рост; «+ –» – заметный рост; «+» – отчетливый рост.



Все исследуемые микробные штаммы характеризовались отчетливым ростом на всех используемых нефтепродуктах, за исключением *Solibacillus silvestris* ОБР 3.2, рост которого на среде с вазелиновым маслом и дизельным топливом не наблюдался. На индивидуальных нефтяных углеводородах исследуемые бактерии росли с различной интенсивностью.

Среди них можно выделить несколько бактериальных культур (*Bacillus firmus* ОБР 1.1; *Bacillus firmus* ОБР 3.1; *Bacillus circulans* ОБР 3.3; *Bacillus circulans* НШ), которые активно использовали для роста все тестируемые нами нефтепродукты и индивидуальные углеводороды. Микробный штамм *Staphylococcus epidermidis* ОБР 2, несмотря на проявленную способность расти на всех исследуемых нефтепродуктах, характеризовался отсутствием роста на индивидуальных углеводородах. Все исследуемые бактерии оказались не способны усваивать циклогексан в качестве единственного источника углерода и энергии, что свидетельствует о высокой токсичности нефтяных углеводородов для исследуемых микроорганизмов.

Следует отметить, что, несмотря на высокую токсичность ароматических углеводородов, в частности нитробензола [18, 19], микробный штамм *Bacillus firmus* ОБР 1.1 отличался едва выраженным ростом на нитробензоле и отчетливым ростом на толуоле. Бактерии *Bacillus firmus* ОБР 3.1; *Solibacillus silvestris* ОБР 3.2 и *Bacillus circulans* ОБР 3.3 характеризовались отчетливым ростом на среде с бензолом.

### Заключение

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что буровые шламы представляют собой источник специализированных микроорганизмов, способных к разложению различных ксенобиотиков. При этом в микробных сообществах буровых шламов доминируют углеводородокисляющие микроорганизмы. Широкий субстратный спектр в отношении нефтяных углеводородов, обнаруженный у выделенных бактерий, свидетельствует о перспективности использования таких микроорганизмов в технологиях микробной утилизации буровых отходов.

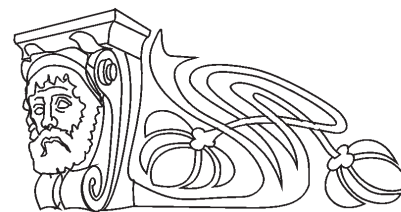
### Список литературы

1. Быков И. Ю. Техника экологической защиты Крайнего Севера при строительстве скважин. Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1991. 240 с.
2. Балаба В. И. Обеспечение экологической безопасности строительства скважин на море // Бурение и нефть. 2004. № 1. С. 18–21.
3. Ягафарова Г. Г., Барахнина В. Б. Утилизация экологически опасных буровых отходов // Нефтегазовое дело. 2006. № 2. С. 48–61.
4. Герасимова М. С. Выбор технологии обезвреживания и утилизации отработанных буровых растворов // Научный потенциал студенчества – будущему России : материалы II Междунар. науч. студ. конф. Т. 3. Охрана окружающей среды и экология. Ставрополь : СевКавГТУ, 2008. С. 101–102.
5. Стабникова Е. В., Селезнева М. В., Рева О. Н., Иванов В. Н. Выбор активного микроорганизма-деструктора углеводородов для очистки нефтезагрязненных почв // Прикл. биохим. и микробиол. 1995. Т. 31, № 5. С. 534–539.
6. Сваровская Л. И., Алтунина Л. К. Активность почвенной микрофлоры в условиях нефтяных загрязнений // Биотехнология. 2004. № 3. С. 63–69.
7. Пырченкова И. А., Гафаров А. Б., Пунтус И. Ф., Филонов А. Е., Боронин А. М. Выбор и характеристика активных психротрофных микроорганизмов-деструкторов нефти // Прикл. биохим. и микробиол. 2006. Т. 42, № 3. С. 298–305.
8. Benka-Coker M. O., Olumagin A. Waste drilling fluid-utilising microorganisms in a tropical mangrove swamp oilfield location // Bioresour. Technol. 1995. № 53. P. 211–215.
9. Калюжин В. А. Очистка грунта и воды от органических присадок к буровым растворам при помощи аборигенной культуры микроорганизмов // Вест. Томск. гос. ун-та. 2009. № 325. С. 174–175.
10. Булатов А. И. Технология промывки скважин. М. : Недра, 1981. 304 с.
11. Нетрусов А. И., Егорова М. А., Захарчук Л. М. Практикум по микробиологии. М. : Академия, 2005. 608 с.
12. Меремкулова Р. Н., Саитова Ф. Н., Абалмасова О. В. Методические указания к лабораторным и практическим занятиям студентам аграрного института. Черкесск : Изд-во Черкесск. гос. технолог. академии, 2010. 46 с.
13. Зенова Г. М., Степанов А. Л., Лихачева А. А., Манучарова Н. А. Практикум по биологии почв. М. : Изд-во Моск. ун-та, 2002. 120 с.
14. Теплер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И. Практикум по микробиологии. М. : Колос, 1993. 175 с.
15. Панченко Л. В., Муратова А. Ю., Турковская О. В., Игнатов В. В. Введение в практические занятия по экологической биотехнологии с основами микробиологии. Саратов : Науч. кн., 2005. 56 с.
16. Руководство к практическим занятиям по микробиологии : практ. пособие / под ред. Н. С. Егорова. 2-е изд. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1983. 251 с.
17. Определитель бактерий Берджи : в 2 т. : пер. с англ. ; под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. М. : Мир, 1997.
18. Таран Д. О. Методы биотестирования в контроле токсичности и детоксикации нитробензола : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2012. 21 с.
19. Elder D. J., Kelly D. J. The bacterial degradation of benzoic and benzenoid compounds under anaerobic conditions : Unifying trends and new perspectives // Microbiol. Rev. 1994. Vol. 13. P. 441–468.



УДК 581.9

## СБОРЫ TYPHACEAE, SPARGANIACEAE, TRIGLOCHINACEAE В ГЕРБАРИИ САРАТОВСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА (SARAT, SARP)



Е. А. Архипова, В. А. Болдырев, **В. Г. Папченков<sup>1</sup>**

Саратовский государственный университет

E-mail: arhipovaea@mail.ru

<sup>1</sup>Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН (ИБВВ РАН),  
п. Борок, Ярославская область

В статье приводятся этикетки сборов семейств Typhaceae, Sparganiaceae, Triglochinaceae, хранящихся в Гербарии Саратовского государственного университета (SARAT, SARP).

**Ключевые слова:** Typhaceae, Sparganiaceae, Triglochinaceae; Гербарий СГУ.

### Typhaceae, Sparganiaceae, Triglochinaceae in Herbarium of Saratov State University (SARAT, SARP)

Е. А. Arkhipova, V. A. Boldyrev, **V. G. Papchenkov**

Labels of specimens of families Typhaceae, Sparganiaceae, Triglochinaceae in Herbarium of Saratov State University (SARAT, SARP) are given.

**Key words:** Typhaceae, Sparganiaceae, Triglochinaceae; Herbarium of Saratov State University.

После проведения инвентаризации семейств Typhaceae, Sparganiaceae и Triglochinaceae в Гербарии СГУ получен полный на сегодняшний день перечень этикеток этих семейств. Все листы перепределены, этикетки внесены в электронную базу данных Гербария СГУ. 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.

#### **Typhaceae**

#### ***Typha angustifolia* L.**

#### **Саратовская область**

г. Саратов и его окрестности: 1 км южнее д. Поливановки, в овраге у ручья, 8.7.1949, Legit Тарасов, Determ Архипова Е. А.; Алгайский р-н: окр. с. Варфоломеевка, лиман, 6.7.1977; Ершовский р-н: 18 км сев.-зап. с. Орлов Гай в балке на водоразделе, 11.7.1967, Legit Кутник Л., Determ Тарасов А.О.; Краснокутский р-н: Добрынинский меловой участок в 15 в. к 3 от Красного Кута, устье оврага, 14.6.1924, Бычкова Е.; Лысогорский р-н: р. Медведица к востоку от с. Небезжино, Legit Кулаков, Determ Архипо-

ва Е.А.; центральная пойма в 4,5 км к югу от с. Б. Копены, берег озера, 12.6.1939, Простомолова; Петровский р-н: пойма р. Медведицы озеро около г. Петровск, 22.7.1927, Чернов В.;

#### **Пензенская область**

Бековский р-н: Круглое, 1935, Legit Чигуряева А. А., Determ Архипова Е. А.; Колышлейский р-н: окр. пос. Колышлей, берег реки, 7.1971, Вишневецкая; Сердобский р-н: г. Сердобск, совхоз «Большевик», озеро «Малое Наводное», в воде у берега, 7.1938, Танатин Бор.; г. Сердобск, совхоз «Большевик», озеро «Колдовашинское», в воде, 30.7.1938, Танатин Б.;

\*Западный Казахстан, М. Татарский Батиш-Куль, 26.7.1937, Захаров; \*Уральская область, Фурм. р-н Б. Узень, 8.1962, Соколова;

#### ***Typha latifolia* L.**

#### **Саратовская область**

Ртищевский р-н: с. Макарово, озеро в пойме Хопра «Страшное» левый берег, 10.6.1921, Монакова; Татищевский р-н: ст. Курдюм, русло реки, 3.7.1953, Козлова; Хвалынский р-н: Хвалынское лесничество, кв. 15–19, край болота, 23.7.1955, Антонова;

\*с. М. Екатериновка, пойма пруда Водокачки (предположительно Калининский р-н Саратовской области), Ахнолиева;

#### ***Typha Laxmannii* Lerechin**

#### **Астраханская область**

дельта Волги, Дамчик, 26.8.1920, Legit Чернов В., Determ Папченков В.; Астраханский гос. заповедник, Обжоровский участок, Взморье, на острове в устье реки Обжоровой, 2.8.1936, Князевская В.;

#### **Волгоградская область**

г. Волгоград и его окрестности: п.р. Волги о. Сарпинский, Щучий проток на берегу водоема, 29.8.1982, Determ Папченков В.;

#### **Саратовская область**

Балаковский р-н: окр. г. Балаково, берег водохранилища, 25.8.1974, Legit Ермакова, Determ



Папченков В.; Ровенский р-н: с. Ровное, пойма, 6.7.1975, Legit Цыкун Т., Determ Папченков В.; Хвалынский р-н: окр. с. Елховка, берег пруда, 18.7.2009, Седова О.В., Закурдаева М. В., Бекренева Е. С.; окр. с. Елшанка, экотонная зона, 19.7.2009, Седова О.В., Закурдаева М. В., Бекренева Е. С.;

***Typha x glauca* Gordon**

**Саратовская область**

Краснокутский р-н: Добрынинский меловой участок в 15 в к с-з от Красного Кута, овраг, у ручья и в воде, 26.6.1924, Legit Бычкова Е., Determ Папченков В.; Лысогорский р-н: берег р. Медведицы в 2 км к N от с. Б. Копены, 11.7.1939, Legit Простомолотова, Determ Папченков В.; Ртищевский р-н: окр. с.с. Макарово – Зубрилово, 8.1921, Legit Монакова, Determ Папченков В.;

***Typha x smirnovii* Mavrodiev**

**Астраханская область**

дельта Волги, Дамчик, 26.8.1920, Legit Чернов В., Determ Папченков В.;

Астраханский гос. заповедник, Дамчикский участок, взморье, 28.7.1937, Legit Кениг Г., Determ Папченков В.;

Астраханский гос. заповедник, Дамчикский участок, устье пр. Моряной, 10.8.1937, Legit Кениг Г., Determ Папченков В.;

**Sparganiaceae**

***Sparganium erectum* L.**

**Астраханская область**

дельта Волги, заповедник, Дамчик, 26.8.1920, Чернов; дельта Волги, Обжоровский участок заповедника, 1.8.1937, Басов, Гришанин, Кирсанов; Астраханский заповедник, берег р. Быстрой, 25.7.1946, Вишневская; Астраханский заповедник, Дамчикский участок, Сазаний култук, 23.8.1946, Десятова; Камызякский р-н: Астраханский гос. заповедник, Дамчикский участок, банчина против р. правой Морянской, 25.7.1940, Legit Крячко Н., Determ Архипова Е.А.; Астраханский гос. заповедник, Дамчикский участок, левая сторона р. Новой Протоки, 25.7.1940, Legit Яковлева Л., Determ Архипова Е. А.; с. Ст. Тузуклей (дельта Волги), в заливе между буграми Бэра, 11.8.1946, Сидорова; Харабалинский р-н: Харабали, пойма Ахтубы, 10.7.1935; Determ Архипова Е. А.,

**Башкортостан**

Чишмирский р-н: д. Чишмы, озерцо в лугах, 27.6.1917, Legit Фофанов В. В., Determ Архипова Е. А.;

\*Арчадинское лесничество, пойма, 10.6.1929, Гранбусова;

**Саратовская область**

Алгайский р-н: 27 в. на ю-з от с. Александров-

Гай, балка «Кривой лиман», русло балки, 25.8.1916, Николукин А.; к ю-в от Ал. Гая в зоне культюков на влажном заболоченном лугу (ст. огор.), 13.8.1988, Determ Архипова Е. А.; Балаковский р-н: водоем в окр. г. Балаково, 27.6.1920; Лысогорский р-н: пойменное озеро к востоку от с. Невежкино, Legit Кулаков, Determ Титкова; в пойме р. Медведицы у с. Лысые Горы, 16.6.1949, Legit Худошин, Determ Архипова Е. А.; с. Лысые Горы, болото, 5.7.1956, Глузман И.; Ровенский р-н: с. Ровное, «Ерек», пойма Волги (в воде), 2.7.1951, Legit Стрункова, Determ Архипова Е. А.; Ртищевский р-н: пруд в окр. с. Макарово, около воды, Determ Архипова Е. А.; с. Макарово, пойма Хопра, озеро в лесу, 10.7.1921, Монакова; окр. с. Макарово, пойма р. Хопра, 8.1921, Монакова; с. Макарово, озеро в лесу, 6.8.1921, Legit Монакова, Determ Архипова Е. А.; Татищевский р-н: с. Ягодная Поляна, с.л.м., ручей, прямо в воде, 7.7.1949, Determ Архипова Е. А.; окр. ст. Курдюм, русло реки, 3.7.1953, Шамаева; ст. Курдюм, ручей, 3.7.1953, Люмина; Энгельский р-н: Красный Яр, пойма Волги, берег озера, 4.8.1939, Федорова Л.;

**Пензенская область**

Сердобский р-н: г. Сердобск, «Лебяжье озеро», в воде, по берегу, 7.1938, Танатин Бор.; г. Сердобск, «Попово озеро», главным образом в воде, у берега, 7.1938, Танатин Бор.; г. Сердобск, «Лебяжье» и «Попово» озера, по берегу, 7.1938, Танатин Бор.; Тамалинский р-н: окр. с. Зубрилово, крупный сосновый лес, 7.1921, Монакова;

\*Западный Казахстан, Камыш-Самарские озера, оз. Степановского в камышах, 4.7.1926, Legit Земляниченко, Determ Архипова Е. А.; \*Уральский округ, Лбищенский р-н, 23.6.1930, берег р. Кушума, Костина А.; \*Владимирский р-н, лиман М. Булухта, высохший берег (предположительно Палласовский р-н Волгоградской области), 16.7.1932, Legit Тереножкин, Determ Архипова Е. А.; \*д. Идолга, у родника, (Саратовская область), 21.6.1934; \*р. Булдурты, карагач (Западный Казахстан), 4.8.1937, Determ Архипова Е. А.; \*у Пеляевки на приплавневом участке, 17.7.1957, Determ Архипова Е. А.; \*с. Березовка, 23.7.1965, Determ Архипова Е. А.;

***Sparganium minimum* Wallr.**

\* «Пылковское», 12.8.1935;

***Sparganium simplex* Huds.**

**Волгоградская область**

Быковский р-н: с. Верхний Балыклей, 17.8.1932, Зайченко; Кумылженский р-н: хутор Глазуновский, на правом берегу р. Медведицы, листья и соцветия растения над водой, 15.7.1938, Широкова П.;



### Саратовская область

г. Саратов и его окрестности: ст. Разбойщина степной склон, Legit Гайдамаченко, Determ Архипова Е. А.; Зеленый остров, 14.8.1932; Зеленый остров, у Щучьего озера, 5.9.1951; Лысогорский р-н: с. Б. Дмитриевка, в воде р. Карамыша, 16.7.1939, Селиванова; с. Б. Дмитриевка, в воде, 16.7.1939, Нуман; с. Лысые Горы, берег озера, близ насыпи ж.д., 4.7.1949, Legit Щепотьев Н., Determ Архипова Е. А.; р-н с. Малый Карамыш, правый берег р. Медведицы, 27.6.1984, Determ Архипова Е. А.; Петровский р-н: озеро в пойме р. Медведицы в 2-х верстах выше г. Петровска, 12.8.1928, Determ Архипова Е. А.; Пугачевский р-н: с. Новые Порубежки, берега оз. Солянки, 6.8.1950, Legit Рамзаева, Бутапова, Determ Архипова Е. А.; Ровенский р-н: с. Ровное, озеро на заливном луге, 12.7.; Ртищевский р-н: окр. с. Макарово, пойма Хопра, пруд, 7.1921, Монакова; Татищевский р-н: окр. ст. Курдюм, левобережная пойма, 27.6.1957, Legit Грачева, Determ Архипова Е. А.; Энгельсский р-н: Сазанка, 14.7.1975, Legit Гуркин Н., Determ Гребенюк С.;

### Пензенская область

Сердобский р-н: г. Сердобск, «Попово озеро», в воде у берега и по берегам, 17.6.1938, Legit Танатин Бор., Determ Архипова Е. А.;

\*Саратовская губерния, Аткарский уезд, по склонам р. Дюне, 1910, Янишевский;

### Triglochinaceae

#### *Triglochin maritima* L.

### Волгоградская область

Еланский р-н: з/с Еланский, Богоявленский участок за плотиной Сочатого пруда, 12.7.1929, Legit Кадыкова А.;

### Саратовская область

г. Саратов и его окрестности: Лысая гора, 28.5.1930, бригада студентов; Лысая гора, 23.6.1948; Балашовский р-н: Балашов, пойма Хопра, 9.6.1934, Куничкина А.; окр. Балашова, пойма Хопра, 6.7.1934, Legit Куничкина А.; Балашов, пойма Хопра, болото, 6.7.1934, Legit Куничкина А., Determ Архипова Е. А.; Калининский р-н: з/с «Казачка», масс. №2, дно дола Гатного, 19.6.1930, Куницына; Лысогорский р-н: у р. Песковатки в 7 км к югу от с. Б. Копены, 13.6.1939, Legit Простомолотова, Determ Архипова Е. А.; Татищевский р-н: Курдюм, луг, Распевалова Н.; луг в 3 км от ст. Курдюм, Legit Михайлова, Determ Архипова Е. А.; правый берег поймы реки Курдюм, Legit Худякова, Determ Архипова Е. А.; в 200 метрах севернее ст. Курдюм, участок незасоленной поймы, 10.6.1951, Legit Ковачева; Курдюм, болото, 4.6.1951, Legit Шиленко; пойма р. Курдюм, солончаковый участок, 4.6.1951, Шамина;

пойма р. Курдюм, солончак, 4.6.1951; севернее ст. Курдюм на 200 м, участок незасоленной поймы, 9.6.1951, Вишнякова; ст. Курдюм, 16.6.1953, Васильева; ст. Курдюм, луг, 3.7.1953, Legit Козлова; ст. Курдюм, пойма, 3.7.1953, Плотникова; ст. Курдюм, луг, 3.7.1953, Гришина; ст. Курдюм, пойма, 3.7.1953, Legit Лапшина; ст. Курдюм, 10.6.1954, Legit Пыринова, Determ Архипова Е. А.; ст. Курдюм, пойма реки Курдюм, 10.6.1954, Legit Медведева, Determ Архипова Е. А.; ст. Курдюм, луг, 10.6.1954, Legit Шатунова, Determ Терешкова Т. В.; ст. Курдюм, на берегу реки, 14.6.1954, Determ Архипова Е. А.; окр. ст. Курдюм, засоленный луг р. Курдюм, 24.6.1955, Григорьева; ст. Курдюм, луг, 24.6.1955, Legit Ятрова; мокрый луг в окр. Курдюма, 26.6.1955, Legit Желткова; пойма реки Курдюм, правый берег, 15.6.1956, Ларина; окр. ст. Курдюм, левобережная пойма, 27.6.1957, Legit Алексеева З., Determ Архипова Е. А.; окр. ст. Курдюм, левобережная пойма, 27.6.1957, Legit Тереножкин, Determ Архипова Е. А.; ст. Курдюм, р. Курдюм, левый берег, 27.6.1957, Legit Гайдамаченко, Determ Архипова Е. А.; заливной луг поймы р. Курдюм, 19.6.1958, в левобережной пойме р. Курдюм, 3.7.1958, Legit Бакулина, Determ Архипова Е. А.; ст. Курдюм, луг, 30.6.1959, Legit Рыжкова, Determ Архипова Е. А.; окр. пос. Татищево, пойма р. Идолга, засоленный луг, 10.8.1996, Березуцкий М. А.;

\*Сталинградский край, окр. хутора Чериков, речка (предположительно Волгоградская область, Клетский р-н, хутор Верхняя Черенка), 31.5.1930, Legit Барина; \*Сталинградский край, окр. хут. Черенков, низменность, (предположительно Волгоградская область, Клетский р-н, хутор Верхняя Черенка), 31.5.1930, Legit Барина;

#### *Triglochin palustris* L.

### Волгоградская область

г. Волгоград и его окрестности: займ. Пичуга, дно оврага, 11.9.1902; Палласовский р-н: Эльтон, сырой берег р. Смарагды выше моста, 11.10.1937;

### Саратовская область

г. Саратов и его окрестности: Гуселки, Legit Чернов В., Determ Архипова Е. А.; на р. Гуселке, 28.8.1928, Legit Попов; Аткарский р-н: окр. с. Лисичкино, 18.6.1920, Legit Беляков Е.; Краснокутский р-н: окр. с. Дьяковка, выгон, 28.6.1938, Legit Шарова В.; Лысогорский р-н: с. Широкий Карамыш, поемные луга, расположенные к с. Гадаевки, 21.6.1935, Determ Архипова Е. А.; овраг в долине Медведицы, к от Н с. Б. Копены, 15.7.1939, Простомолотова; Петровский р-н: г. Петровск, Legit Келлер; левая сторона р. Волги



в 5–10 верстах от г. Петровск на илистой почве, 14.8.1925, Legit Лазнев; по берегу р. Медведица, около г. Петровск, 22.7.1927, Legit Чернов В.; Татищевский р-н: ст. Курдюм, 16.6.1959, Артемьева; ст. Курдюм, луг, 17.6.1959, Legit Ноздрин; окр. пос. Татищево, пойма р. Идолги, засоленный луг, 10.8.1996, Березуцкий М.;

#### Казахстан

##### Западно-Казахстанская область

Бокейординский р-н: Нарынское лесничество, окр. г. Урды, урочище Мечет-Кум, во влажной западине, 15.7.1929, Legit Фролова Е.;

Нарынское лесничество, окр. г. Урды, урочище «Мечет-Кум», западина с сырой почвой, 15.8.1929, Фролова Е.;

#### Оренбургская область

Бугурусланский р-н: Полибинское кумысное зав., вост. и южн. склоны в долину Курсака, 7.6.1903, Legit Гордягин А.;

#### Пензенская область

Сосновоборский р-н: Кададинское лесничество, 7.1925, Legit Янишевский;

\*Арчадинское лесничество, солонц. луг, 3-й кордон, 17.8.1928, Legit Гранбусова.

УДК 575:581.16:575642

## ПОЛУЧЕНИЕ ПОЛИЭМБРИОННЫХ АНДРОГЕННЫХ ГАПЛОИДОВ КУКУРУЗЫ

Д. С. Демихова, Ю. В. Смолькина, В. С. Тырнов

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

Было проанализировано потомство, полученное после скрещивания материнских и отцовских форм, имеющих хорошо диагностируемые доминантные и рецессивные признаки (гены). Установлено, что из зерновок первого поколения могут развиваться как истинные гибриды, так и матроклинные и андрогенные особи. Андрогенные особи могут сочетаться в одной зерновке как с гибридными, так и с матроклинными близнецами. Установлено, что андрогенез у кукурузы может зависеть от генотипических особенностей материнской формы и различия в частотах его проявления могут быть более чем 100-кратными.  
**Ключевые слова:** андрогенез, гаплоидия, полиэмбриония.

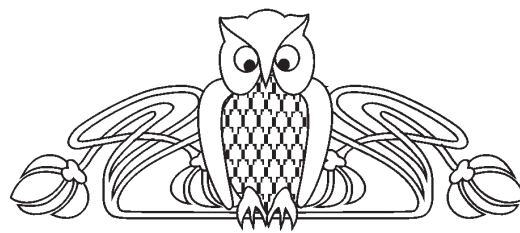
### Detection of Aize Polyembryonic Androgenic Haploids

D. S. Demikhova, Yu. V. Smolkina, V. S. Tyrnov

The maize posterity received after crossing of the maternal and paternal forms having well diagnosed dominant and recessive traits (genes) was analyzed. It is established that from kernels of the first generation can develop both true hybrids, and matroclinous and androgenic individuals. Androgenic individuals can be combined in one kernel, both with hybrid, and with matroclinous twins. It is established that androgenesis in mais can depend from the genotypic features of maternal form and distinction in frequencies of its manifestation can be more than 100-multiple.  
**Key words:** androgenesis, haploidy, polyembryony.

#### Введение

Андрогенез – явление, когда ядро яйцеклетки замещается ядром спермия и возникают особи, имеющие геном отцовской формы и материнскую цитоплазму [1–3]. Такая двойственная генотипическая структура спорофита



имеет важное научное и прикладное значение. Она позволяет выявлять и изучать вклад ядра и цитоплазмы в проявление генотипических и фенотипических признаков, а в областях практической селекции и биотехнологии – быстро получать аллоплазматические линии. Учитывая, что цитоплазматические факторы могут сильно влиять на многие важнейшие признаки (продуктивность, устойчивость к биотическим и абиотическим факторам, скороспелость, стерильность и др.), ясно, что андрогенез может быть явлением, положенным в основу ряда инновационных проектов, направленных на повышение эффективности селекционного процесса.

Частота возникновения андрогенных растений, в том числе кукурузы, в большинстве случаев крайне низка, от 1 на несколько десятков и даже сотен тысяч растений [2, 3]. Поэтому заслуживают внимания случаи, когда андрогенез проявляется более часто или, по крайней мере, явно не случайно.

Кукуруза представляет интерес не только как одна из важнейших возделываемых культур, но и как объект для генетических исследований, который может быть донором и реципиентом соответствующих генов.

Согласно литературным и собственным данным [2, 4], отмечались отдельные случаи возникновения андрогенных растений среди близнецов, то есть при полиэмбрионии, по-



этому связь этих двух явлений заслуживает специального изучения.

### Материалы и методы

В качестве материнской формы использовалась партеногенетическая линия кукурузы АТ-1, которой свойственна полиэмбриония и матроклинная гаплоидия [5–7]. Эта линия имеет доминантные гены АВР1R, обуславливающие пурпурную окраску корешков проростков, всего растения во взрослом состоянии и зерновок.

В качестве отцовских форм использовали линии:

1) ТМ (Тестер Мансгелдорфа), имеющий хорошо выраженные на зерновках, проростках и взрослых растениях рецессивные моногенные признаки, локализованные в разных хромосомах [8, 9];

2) КМ (Коричневый маркер), имеющий, гены а ВР1R (то есть, в отличие от линии АТ-1, вместо доминантного гена А присутствует его рецессив а);

3) ЗМС-1 (Зародышевый маркер Саратовский), имеющий гены АСR-nj: cudu, gl1. Доминантные гены обуславливают пурпурную окраску зародыша и верхушки зерновки [8, 9], ген gl1 (glossy 1) – отсутствие воскового налёта на листьях проростков (глянцевые листья).

Растения выращивались на экспериментальном поле в сравнительно однородных условиях. Початки изолировали пергаментными пакетами, на которых отмечалась дата появления первых пестичных нитей. Учитывая, что сроки задержки опыления могут сильно влиять на частоты возникновения матроклинных гаплоидов и, возможно, близнецов, опыление производили через 5–6 суток, в соответствии с первыми отмеченными датами.

При скрещивании линии АТ-1 с другими перечисленными линиями по проявлению генов

можно судить о путях происхождения потомства – гибридном, матроклинном, андрогенном. Об андрогенном происхождении судили по отсутствию проявления генов материнской формы (пурпурной окраски) и наличию признаков (генов) отцовского родителя. У линий ТМ и ЗМС-1 на стадии проростков андрогены среди них сначала выявляли по отсутствию пурпурной окраски первичных корешков, а затем на стадии двух-трёх листьев по наличию гена gl1-glossy (глянцевые листья). Для линии ТМ одновременно возможен анализ по признаку «безлигульность» (ген lg1). При использовании линии КМ зерновки проращиваются в темноте. Корешки гибридов и матроклинных растений краснеют, андрогенные – остаются белыми. Взрослые андрогенные гаплоиды и диплоиды линии КМ имеют коричневую окраску.

Проращивание зерновок производилось в пластмассовых кюветах на влажной фильтровальной бумаге. В этих же кюветах проростки с корнями прикрытыми сверху дополнительно также фильтровальной бумагой, нормально развивались до трёх-четырёх листьев. Числа хромосом подсчитывали в корневых меристемах на давленных ацетокарминовых препаратах.

### Результаты и их обсуждение

Прежде всего, рассмотрим некоторые количественные показатели. Частоты полиэмбрионии для линии АТ-1 лежали в пределах 4–6%. В рассматриваемых опытах среди 18012 проросших зерновок выявлено 893 двойни, среди которых найдено 12 андрогенных гаплоидов. Таким образом, средняя частота андрогенеза была равной 1 : 1501. Соответственно, для линий ТМ, КМ и ЗМС-1 частоты андрогенеза были 1:1649, 1: 1148 и 1:1287 (таблица). Средние частоты андрогенеза, по литературным данным, могут быть 1:80000 [7] и даже более редкими [ 2, 3] .

**Встречаемость полиэмбрионии и андрогенных растений при скрещивании линии АТ-1 (как материнской формы) с 3 опылителями**

Линия- опылитель	Количество зерновок, шт. (%)		Встречаемость и тип * двоен
	проросших	полиэмбрионных	
ТМ	9 896	478 (4,8)	6 5 (Аг-Гиб)+1 (Мг-Аг)
КМ	4 254	179 (4,2)	3 2 (Аг-Гиб)+1 (Мг-Аг)
ЗМС-1	3 862	236 (6,1)	3 2 (Аг-Гиб)+1 (Мг-Аг)

Примечание. \* Аг – Андрогенный гаплоид, Мг – матроклинный гаплоид, Гиб – гибрид.

Наши данные показывают, что андрогенные растения могут возникать на несколько

порядков чаще при частоте, сопоставимой с таковой для матроклинной гаплоидии. С точки



зрения работающих в области практической селекции отмеченные частоты андрогенеза могут показаться мало впечатляющими. Такое мнение может поддерживаться работами в области получения гомозиготных линий из матроклинных гаплоидов. Последние ранее получали с частотами около 1: 1000 и реже [6, 7]. Гаплоидный метод стал распространяться после увеличения частот гаплоидии до 5–10%, путём использования специальных линий-гаплоиндукторов, созданных нами [6, 10, 11].

Однако необходимо учитывать следующее обстоятельство. Для создания линий необходимы сотни и тысячи гаплоидов. Основное же предназначение андрогенных растений связано с получением аллоплазматических линий, то есть уже созданных линий, но переведённых на другую цитоплазматическую основу. А для этого достаточно даже одного, двух андрогенных растений. Поэтому даже частоты около 1 на 2–3 тысячи могут быть вполне приемлемыми для практической работы. Естественно, если когда-либо удастся повысить выход андрогенных растений до уровня выше 3%, их можно будет использовать для получения линий, так же как и матроклинные, дополнительно используя возможности и преимущества отбора и селекции на уровне микрогаметофита.

Андрогенные близнецовые гаплоиды получены при использовании пыльцы всех 3 исследованных линий. В скрещиваниях их с другими линиями ранее регистрировались единичные случаи полиэмбрионии и не выявлено ни одно андрогенное растение. Следовательно, факторы детерминации андрогенеза связаны с генотипическими особенностями материнского, а не отцовского родителя. Поэтому дальнейшие исследования целесообразно сосредоточить на выявлении причин такого феномена.

## Список литературы

1. Тырнов В. С., Хохлов С. С. Андрогенез у покрытосеменных растений // Генетика. 1974. Т. 10, № 9. С. 154–167.
2. Тырнов В. С., Хохлов С. С. Андрогенез // Гаплоидия и селекция. М., 1976. С. 87–99.
3. Тырнов В. С. Андрогенез *in vivo* у растений // Биология развития и управление наследственностью. М., 1986. С. 138–164.
4. Смолькина Ю. В. Матроклинные и андрогенные близнецы кукурузы // Тезисы Молодёжной конф. ботаников в Санкт-Петербурге. СПб., 2000. С. 137.
5. Тырнов В. С., Еналеева Н. Х. Автономное развитие зародыша и эндосперма у кукурузы // Докл. АН СССР. 1983. Т. 272, № 3. С. 722–725.
6. Тырнов В. С. Гаплоидия и апомиксис // Репродуктивная биология, генетика и селекция : сб. науч. тр., посвящ. 90-летию со дня рожд. проф. С. С. Хохлова. Саратов, 2002. С. 32–46.
7. Chase S. S. Monoploids and monoploid derivatives of maize (*Zea mays* L.) // Bot. Rev. 1969. Vol. 35, № 2. P. 117–167.
8. Coe E. H., Neuffer M. G., Hoisington D. A. The genetics of corn // Corn and Corn Improvement / ed. G. F. Sprague, J. W. Dudley. ASACSSA-SSSA, Madison ; Wisconsin, 1988. P. 81–258.
9. Neuffer M. G., Coe E. H., Wessler S. R. Mutants of Maize. Cold spring harbor laboratory press. L., 1997. 468 p.
10. Тырнов В. С., Завалишина А. Н. Индукция высокой частоты возникновения матроклинных гаплоидов у кукурузы // Докл. АН СССР. 1984. Т. 276, № 3. С. 735–738.
11. Zavalishina A. N., Tyrnov V. S. Induction of matroclinal haploidy in maize *in vivo* // Reproductive biology and plant breeding : XIII EUCARPIA Congr. L., 1992. P. 221–222.



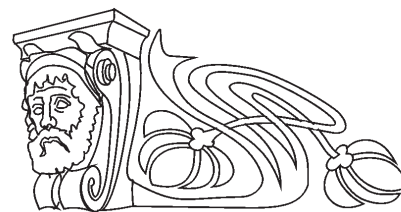


УДК 591.9: 595.796

## ЗООГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МУРАВЬЕВ (HYMENOPTERA, FORMICIDAE) ЮЖНОГО ЗАУРАЛЬЯ

А. С. Рябинин, Т. А. Новгородова

Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск  
E-mail: artmi777@yandex.ru, tanovg@yandex.ru



Обобщены данные по фауне муравьев и их распространению на территории Южного Зауралья. Основу мирмекофауны региона составляют представители трех родов: *Formica* (33.3%), *Myrmica* (23%) и *Lasius* (16.7%). По широтной составляющей ареала преобладают виды с температурным (41.6%), суббореальным (20.9%) и бореальным (16.6%) распространением. Температурно-субтропические, аркто-температные и аркто-бореальные виды составили лишь 8.3; 8.3 и 4.2% соответственно. По долготной составляющей ареала преобладают западно-центрально-палеарктические (50%) и транспалеарктические (35.4%) виды. Центрально-восточно-палеарктические виды составили 4.1%, амфи-палеарктические, восточно-палеарктические, трансевразийские, циркумареалы и центрально-палеарктические – лишь по 2.1%. Анализ подзонального распространения муравьев на исследуемой территории показал, что наибольшее число видов в целом (89.6%), а также оригинальных видов (13) характерно для подзоны разнотравно-дерновинно-злаковой степи. К северу количество видов и родов постепенно сокращается. Во всех подзонах встречаются 27% видов фауны муравьев региона. Наибольшая степень сходства отмечена между фаунами муравьев южной и северной лесостепи (коэффициент Чекановского–Сьерсенена – 80%). Наименее сходен видовой состав муравьев региона, обитающих в разнотравно-дерновинно-злаковой степи и подтайге (35%).

**Ключевые слова:** муравьи, Южное Зауралье, фауна, зоогеография.

### Zoogeographic Analysis of Ants (Hymenoptera, Formicidae) of South Zauralye

A. S. Ryabinin, T. A. Novgorodova

Faunal data on the ants of South Zauralye and their distribution on the territory of the region are resumed. Major part of the fauna consists of the following three genera: *Formica* (33.3%), *Myrmica* (23%) and *Lasius* (16.7%). In latitudinal constituent of areal temperate, subboreal and boreal species prevail (41.6, 20.9 and 16.6%, respectively). Temperate-subtropical, arcto-temperate and arcto-boreal species made up only 8.3, 8.3 and 4.2%, respectively. In longitudinal constituent of areal west-central-paleartic and transpaleartic species prevail (50% and 35.4%, respectively). Central-west-paleartic species made up 4.1%, amphi-paleartic, east-paleartic, trans-eurasian, circumareal and central-paleartic – only 2.1% each. Analysis of ant species distribution within the climatic subzones has shown that the highest number of species in total (89.6%) and original species (13) are typical for mixed-grass-cereal steppe. The number of species and genera are gradually reduced to the North. 27% of the total fauna was found in all subzones of South Zauralye. The most similar faunas were found between the northern

and southern forest-steppe (80%). The least similarity was found between mixed-grass-cereal steppe and subtaiga (35%).

**Key words:** ants, South Zauralye, fauna, zoogeography.

### Введение

Южное Зауралье расположено в юго-западной части Западно-Сибирской равнины и охватывает Курганскую область, юг Тюменской, восток Челябинской и юго-восток Свердловской областей, а также север Кустанайской и Северо-Казахстанской областей Казахстана. Согласно геоботаническому районированию, на территории исследуемого региона последовательно с севера на юг сменяются подтаежная подзона бореальной зоны, северная и южная лесостепь и подзона разнотравно-дерновинно-злаковых степей [1]. Разнообразие природных условий региона обуславливает богатство видового состава различных насекомых [2–4].

Одной из ключевых групп насекомых в естественных биоценозах являются муравьи. Благодаря разнообразной деятельности, в частности в роли хищников, потребителей семян и пади, а также активному участию в почвообразовательных процессах, они оказывают существенное влияние на состояние и развитие природных сообществ [5–9]. Однако, несмотря на существенную роль муравьев в экосистемах, мирмекофауна Южного Зауралья долгое время оставалась практически неизученной. Единственной работой, в которой содержались наиболее полные сведения о муравьях данного региона (26 видов с учетом современной таксономии [10]), являлся двухтомный труд М. Д. Рузского «Муравьи России» [11]. Впоследствии ряд разрозненных исследований был проведен в отдельных пунктах Курганской, Челябинской и Тюменской областей [12–17]. Планомерное исследование мирмекофауны, проведенное в различных биотопах на территории Южного Зауралья с использованием различных методов сбора, а также обобщение накопившихся к этому моменту в литературе сведений [12–17] позволили уточнить видовой состав муравьев региона [18]. Однако анализ зоогеогра-



фической структуры фауны муравьев Южного Зауралья до сих пор не проводился.

Целью данной работы было уточнение видового состава муравьев, обитающих в разных подзонах, выявление закономерностей распределения муравьев в подзональном градиенте на территории Южного Зауралья, а также проведение ареалогического анализа фауны муравьев, обитающих на территории региона.

### Методика и материалы

Исследования проведены в 2006–2013 гг. в окрестностях 48 пунктов из трех областей – Курганской, Челябинской и Тюменской в четырех подзонах: подтайге (2 точки сбора), северной лесостепи (19), южной лесостепи (17) и разнотравно-дерновинно-злаковой степи (10). Места сбора указаны на карте (рис. 1).

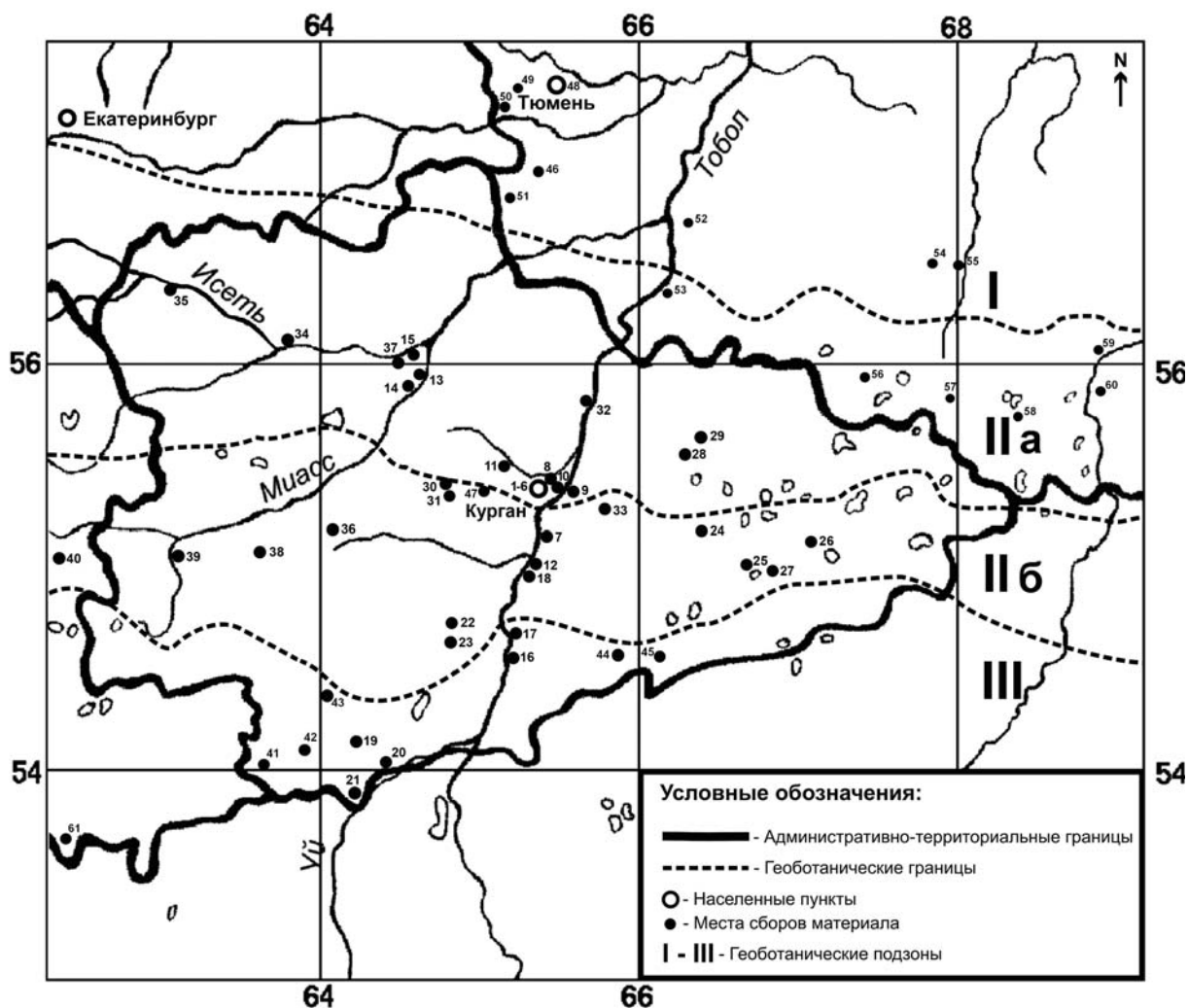


Рис. 1. Места сбора материала на территории Южного Зауралья: Курганская область: 1 – г. Курган, 2 – п. Глинки, 3 – п. Керамзитный, 4 – п. Увал, 5 – ст. Утяк, 6 – с. Шепотково, 7 – с. Бараба, 8 – д. Белый Яр, 9 – с. Колташево, 10 – д. Костоусово, 11 – пст. Старый Просвет, 12 – с. Темляково; 13 – пгт. Каргаполье, 14 – с. Окуневское, 15 – с. Осиновское; 16 – с. Боровлянка, 17 – с. Глядянское, 18 – с. Утятское, 19 – с. Костыгин Лог, 20 – д. Приозерное; 21 – с. Усть – Уйское, 22 – г. Куртамыш, 23 – д. Узково; 24 – пгт. Лебяжье, 25 – с. Лисье, 26 – г. Макушино, 27 – с. Золотое, 28 – с. Михайловка, 29 – с. Мокроусово, 30 – с. Малое Белое, 31 – пгт. Юргамыш, 32 – с. Нижнетобольное, 33 – пгт. Варгаши, 34 – г. Далматово, 35 – г. Катайск, 36 – пгт. Мишкино, 37 – д. Соровское, 38 – г. Шумиха, 39 – г. Щучье, 41 – пст. Кислянка, 42 – с. Рыбное, 43 – с. Заманилки, 44 – с. Башкирское, 45 – с. Половинное, 47 – с. Рождественка; Челябинская область: 40 – п. Лесной, 61 – Троицкий заказник [13, 14, 16]; Тюменская область: 46 – с. Леваши, 48 – г. Тюмень, 49 – станция Подъем [17], 50 – с. Успенка [17], 51 – д. Кирсанова [17], 52 – г. Заводоуковск [17], 53 – с. Упорово [17], 54 – с. Омутинское [17], 55 – пгт. Голышманово [17], 56 – с. Армизонское [17], 57 – с. Бердюжье [17], 58 – с. Окунево [17], 59 – г. Ишим [17], 60 – с. Большая Ченчерь [17]. Геоботанические подзоны: I – подтайга; IIa – северная лесостепь; IIb – южная лесостепь; III – разнотравно-дерновинно-злаковая степь



Материал собирали на маршрутах, осматривая все возможные места обитания муравьев (пни, кочки, старые ветви, поваленные деревья, полости под камнями и т.п.). Маршруты шириной 3 м прокладывали таким образом, чтобы охватить все растительные ассоциации исследуемой территории. Муравьев собирали из гнезд и из колоний тлей и фиксировали в 70% спирте. Из гнезд муравьев собирали по 10–15 особей. Общая протяженность маршрутов составила около 196 км. Кроме того, для наиболее полного выявления видового состава дополнительно был применен метод белково-углеводных приманок [19]. В качестве приманок использовали ватные шарики равного размера, смоченные 15% сахарным сиропом, а также измельченные вареные яйца. Приманки раскладывали на полиэтиленовые подложки. Всего заложено 49 площадок (10×10 м, с шириной квадрата 1 м). Сбор муравьев на кормушках проводился спустя 15–20 минут после раскладки, по пять раз с интервалом 20–25 минут. Всего за период исследований собрано 2835 проб.

Для анализа зонального распределения муравьев проводили оценку встречаемости гнезд муравьев разных видов (число гнезд на 1 км маршрута). Всего использовали 4 категории: 1 – редкий (менее 3 гн./км), 2 – обычный с низкой плотностью гнезд (3–5 гн./км), 3 – обычный (6–10 гн./км), 4 – массовый (более 10 гн./км). Классификация подсемейств, родов и подродов

муравьев дана по Б. Болтону [10]. Типология ареалов в работе принята по Городкову [20–22]. Ареалогический анализ проведен на основе двух составляющих ареала – долготной и широтной.

Для оценки фаунистического сходства фауны муравьев на уровне геоботанических подзон использовали коэффициент Чекановского–Сьеренсена [23, 24]. При построении дендрограмм использовали метод невзвешенного попарного центроидного усреднения (UPGMA). Для характеристики фауны муравьев геоботанических подзон рассматривали оригинальные и обычные виды. Оригинальными мы считали виды, которые были отмечены лишь в одной подзоне, обычными – виды, которые встречались во всех подзонах. Обработка результатов проведена в программах Microsoft Excel и Past.

### Результаты и их обсуждение

В результате обработки всех сборов, сделанных на территории Южного Зауралья с 2006 по 2013 гг., выявлен 31 вид муравьев. По литературным данным [11–17], с учетом современной таксономии для исследуемой территории указывалось еще 18 видов [18]. Таким образом, без учета синантропного вида *Monomorium pharaonis* L., распространенного в городах региона, мирмекофауна Южного Зауралья к настоящему времени насчитывает 48 видов муравьев из 10 родов двух подсемейств (Formicinae, Myrmicinae) (табл. 1).

Таблица 1

Аннотированный список видов муравьев Южного Зауралья

№	Вид муравьев	Составляющие ареала		Пункты сбора
		Долготная	Широтная	
1	<i>Formica aquilonia</i> Yarr.	ТП	Б	III: 2
2	<i>F. polystena</i> Först.	ЕЛ	Т	I: 17, 19, 41, 43, 44; II: 12, 40; III: 2, 3, 4, 9, 11, 13, 14, 15, 34, 35
3	<i>F. pratensis</i> Retz.	ЕЛ	Т	I: 19, 21, 42, 45; II: 12, 24, 25, 27, 36, 39, 40; III: 2, 3, 4, 9
4	<i>F. rufa</i> L.	ЕБ	Т	I: 17, 19, 21, 41, 43; II: 12, 23, 25, 30, 38, 39; III: 2, 3, 5, 13, 15, 28; IV: 46
5	<i>F. candida</i> Smith	ТП	Т	[13, 14, 16]
6	<i>F. cinerea</i> Mayr	ЕТ	Т	[13, 14]
7	<i>F. cunicularia</i> Latr.	ЕТ	Т	I: 19, 21, 41, 42, 43, 44, 45; II: 7, 12, 22, 24, 25, 26, 27, 30, 33, 36, 38, 39, 40; III: 3, 4, 11, 13, 15, 28, 34, 35
8	<i>F. fusca</i> L.	ТП	Б	I: 19, 21, 41, 43, 44, 45; II: 7, 12, 18, 22, 24, 27, 30, 31, 38, 39, 40, 47; III: 2, 4, 5, 11, 14, 28, 34, 35; IV: 46, 48
9	<i>F. gagates</i> Latr.	ЕТ	Т	[11]



Продолжение табл. 1

№	Вид муравьев	Составляющие ареала		Пункты сбора
		Долготная	Широтная	
10	<i>F. rufibarbis</i> Fabr.	ЕО	С	I: 19; II: 12, 33, 39, 40; III: 1, 3, 4, 6, 8
11	<i>F. subpilosa</i> Ruzs.	ЦВ	Т	[13, 14]
12	<i>F. uralensis</i> Ruzs.	ТП	АБ	[11]
13	<i>F. sanguinea</i> Latr.	ТП	Т	I: 19, 44, 45; II: 12, 23, 25, 30, 31, 38, 47
14	<i>F. exsecta</i> Nyl.	ТП	Т	[11, 13, 14, 17]
15	<i>F. manchu</i> Wheeler	ЦА	С	[13, 14]
16	<i>F. pressilabris</i> Nyl.	ТЕ	Т	[11, 13, 14, 16, 17]
17	<i>Camponotus herculeanus</i> L.	ТП	АТ	I: 17, 21
18	<i>C. saxatilis</i> Ruzs.	ВА	Т	I: 19, 21, 43; II: 25, 27; III: 6, 9, 28
19	<i>C. vagus</i> Scop.	ЕО	Т	I: 16, 19; II: 7, 12; III: 9
20	<i>C. fallax</i> Nyl.	ЕО	С	I: 19
21	<i>Cataglyphis aenescens</i> Nyl.	ЕЦ	С	I: 19, 21, 45; III: 11
22	<i>Polyergus rufescens</i> Latr.	ЕО	С	I: 19; II: 12
23	<i>Lasius alienus</i> Först.	ТП	Т	I: 19; II: 12, 25; III: 2
24	<i>L. brunneus</i> Latr.	ЕТ	С	[13, 14]
25	<i>L. niger</i> L.	ТП	ТС	I: 16, 19, 20, 21, 41, 42, 43, 44, 45; II: 1, 3, 5, 7, 12, 18, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 30, 31, 33, 36, 38, 39, 40, 47; III: 2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 28, 29, 32, 34, 35, 37; IV: 46, 48
26	<i>L. platythorax</i> Seif.	ТП	ТС	II: 12
27	<i>L. flavus</i> Fabr.	ТП	Т	I: 19, 20, 43, 45; II: 12, 22, 24, 26, 31, 38, 39, 40; III: 3, 4, 9, 30
28	<i>L. fuliginosus</i> Latr.	АП	Т	I: 19, 21, 45; II: 27
29	<i>L. mixtus</i> Nyl.	ТП	Б	[13, 14]
30	<i>L. umbratus</i> Nyl.	ТП	С	I: 19
31	<i>Formicoxenus nitidulus</i> Nyl.	ТП	Б	[11]
32	<i>Leptothorax acervorum</i> Fabr.	ТП	АБ	I: 19, 43, 45; II: 30, 31, 40; III: 1; IV: 46, 48
33	<i>L. muscorum</i> Nyl.	ТП	Б	[13, 14]
34	<i>Temnothorax nassonovi</i> Ruzs.	ЕЛ	С	[13, 14]
35	<i>T. serviculus</i> Ruzs.	АД	Т	I: 19
36	<i>T. tuberum</i> Fabr.	ЕБ	ТС	[11]
37	<i>Myrmica gallienii</i> Bondr.	ЕО	Б	II: 26; III: 3
38	<i>M. lobicornis</i> Nyl.	ЕО	Б	I: 19, 21, 42, 43, 44, 45; II: 12, 30, 31, 40, 47; III: 3, 4, 11, 35; IV: 46, 48
39	<i>M. rubra</i> L.	ЕБ	Т	I: 19, 22, 41; II: 18, 25, 30, 31, 39, 47; III: 3, 5, 13, 14, 15, 28, 29, 32, 34, 35; IV: 46, 48
40	<i>M. ruginodis</i> Nyl.	Ц	АТ	I: 19; II: 40; III: 2, 9
41	<i>M. rugulosa</i> Nyl.	ЕТ	Т	II: 39
42	<i>M. salina</i> Ruzs.	УС	Т	[13, 14]



Окончание табл. 1

№	Вид муравьев	Составляющие ареала		Пункты сбора
		Долготная	Широтная	
43	<i>M. scabrinodis</i> Nyl.	ЕЕ	Б	I: 19, 43, 45; II: 12, 26, 27
44	<i>M. schencki</i> Viereck	ЕЕ	ТС	[11, 13, 14]
45	<i>M. slovacica</i> Sadil	ЕО	С	[13, 14]
46	<i>M. stangeana</i> Ruzs.	ЕО	С	[11]
47	<i>M. sulcinodis</i> Nyl.	ТП	АТ	II: 26, 30, 31; III: 2
48	<i>Tetramorium caespitum</i> L.	ЕБ	АТ	I: 19, 21, 41, 42, 43, 44, 45; II: 12, 33, 22, 25, 26, 30, 36, 40; III: 3, 4, 9, 11, 35; IV: 46

Примечание. Долготная составляющая ареала: АД – азиатско-дальневосточный, АП – амфипалеарктический, ВА – восточно-евро-азиатский, ЕБ – евро-байкальский, ЕЕ – евро-енисейский, ЕЛ – евро-ленский, ЕО – евро-обской, ЕТ – евро-тобольский, ЕЦ – евро-центрально-азиатский, ЗЦП – западно-центрально-палеарктический, ТП – транспалеарктический, ТЕ – трансевро-азиатский, УС – урало-сибирский, Ц – циркулеарел, ЦА – центрально-азиатский, ЦВ – центрально-восточно-азиатский. Широтная составляющая ареала: АБ – аркто-бореальный, АТ – аркто-температный, Б – бореальный, С – суббореальный, Т – температурный, ТС – температурно-субтропический. Подзоны: I – разнотравно-дерновинно-злаковая степь, II – южная лесостепь, III – северная лесостепь, IV – подтайга. Обозначения пунктов сбора см. рис. 1.

### Таксономический состав

Три наиболее богатых видами родов составляют более 70% всей фауны муравьев Южного Зауралья (табл. 2): *Formica* (33.3%), *Myrmica* (23.0%) и *Lasius* (16.7%). Во всех геоботанических подзонах региона эти роды также занимают первые места по количеству видов, однако их соотношение в каждой из подзон

меняется. Так, доленое участие рр. *Formica* и *Lasius* в фаунах подзон имеет тенденцию к увеличению в северном направлении с максимальным значением в подтайге (40 и 20% соответственно). Муравьи рода *Myrmica* почти одинаково представлены во всех подзонах исследуемой территории с максимальным значением в южной лесостепи.

Таблица 2

Соотношение видов всех родов муравьев в фауне Южного Зауралья и геоботанических подзон региона, %

№	Род	Южное Зауралье	Геоботаническая подзона			
			РДЗС	ЮЛ	СЛ	ПТ
1	<i>Formica</i>	33.3	32.5	31.2	37.5	40.0
2	<i>Cataglyphis</i>	2.1	2.3	–	4.2	–
3	<i>Polyergus</i>	2.1	2.3	3.1	–	–
4	<i>Camponotus</i>	8.3	9.3	9.4	8.3	–
5	<i>Lasius</i>	16.7	16.3	15.6	16.7	20.0
6	<i>Myrmica</i>	23.0	23.2	28.1	25.0	26.7
7	<i>Tetramorium</i>	2.1	2.3	3.1	4.2	6.7
8	<i>Formicoxenus</i>	2.1	–	3.1	–	–
9	<i>Leptothorax</i>	4.1	4.6	3.1	4.2	6.7
10	<i>Temnothorax</i>	6.2	7.0	3.1	–	–

Анализ подзонального распределения муравьев на исследуемой территории показал, что большинство видов муравьев (89.5% видов от общего количества в регионе) встречается на юге региона в разнотравно-дерновинно-злаковой степи

(рис. 2). Здесь же выявлено наибольшее количество оригинальных видов муравьев (13 видов): *Formica candida* Smith, *F. cinerea* Mayr, *F. gagates* Latr., *F. subpilosa* Ruzs., *F. manchu* Wheeler, *Camponotus fallax* Nyl., *Lasius brunneus* Latr., *L. mixtus* Nyl.,



*Leptothorax muscorum* Nyl., *Temnothorax nassonovi* Ruzs., *T. serviculus* Ruzs., *Myrmica salina* Ruzs. и *M. slovacca* Sadil. Эта подзона включает в себя все разнообразие биотопов региона за исключением ельников, характерных для бореальной зоны (солончаки, типчаковые степи, залежи, разнотравные луга, осиново-березовые колки и даже небольшие

участки ленточных сосновых боров вдоль реки Тобол). Вследствие теплого и сухого климата частота встречаемости гнезд теплолюбивых видов, таких как *Cataglyphis aenescens* Nyl., *Polyergus rufescens* Latr., Ruzs. и *Lasius alienus* Först., в степи значительно выше, а *Temnothorax serviculus* вообще встречен только в этой подзоне.

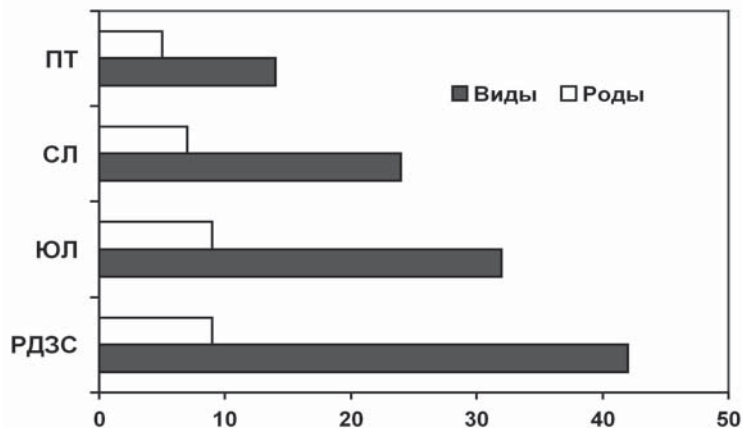


Рис. 2. Количество родов и видов муравьев в разных геоботанических подзонах. Подзоны: РДЗС – разнотравно-дерновинно-злаковая степь, ЮЛ – южная лесостепь, СЛ – северная лесостепь, ПТ – подтайга

При продвижении с юга на север количество видов постепенно сокращается (см. рис. 2). В подтайге доля видов от общего количества в регионе составила всего 31.2%. Аналогичная тенденция прослеживается и для родов: их количество сокращается от 9 в самых южных подзонах (разнотравно-дерновинно-злаковая степь и южная лесостепь) до 5 в подтайге (см. рис. 2). Снижается и количество оригинальных видов муравьев: в южной лесостепи выявлено 4 вида (*Formica uralensis* Ruzs., *Lasius platythorax* Seif., *Formicoxenus nitidulus* Nyl. и *Myrmica stangeana* Ruzs.), в северной лесостепи – 1 (*Formica aquilonia* Yarr.). В подтайге оригинальных видов не отмечено. Количество обычных видов, отмеченных во всех подзонах, равно 13.

В целом сравнительный анализ видового состава муравьев, обитающих в разных геоботанических подзонах на территории Южного Зауралья, показал, что наиболее сходна мирмекофауна южной и северной лесостепи (табл. 3). Высокий показатель общности (80%) между данными подзонами объясняется большим количеством биотопов, сходных по характеру растительности и микроклиматическим условиям (березняки разнотравные, березово-осиновые колки, разнотравные луга и др.). Высокая степень сходства также выявлена между фауной южной лесостепи и разнотравно-дерновинно-злаковой степи (78%). Наименьшая степень сходства видового состава муравьев (35%) выявлена при сравнении фаун крайней южной и северной подзон – разнотравно-дерновинно-злаковой степи и подтайги соответственно.

Таблица 3

Распределение муравьев Южного Зауралья по подзонам

Подзона	Число родов	Число видов	Число оригинальных видов	Степень различия фаун*			
				ПТ	СЛ	ЮЛ	РДЗС
ПТ	5	15	0	–	0.46	0.37	0.35
СЛ	7	24	1	<b>13</b>	–	0.80	0.69
ЮЛ	9	32	4	<b>14</b>	<b>21</b>	–	0.78
РДЗС	9	43	13	<b>15</b>	<b>23</b>	<b>28</b>	–

Примечание. \* нежирный шрифт – коэффициент сходства Чекановского–Сьеренсена, жирный – число общих видов в геоботанических подзонах. Подзоны: РДЗС – разнотравно-дерновинно-злаковая степь, ЮЛ – южная лесостепь, СЛ – северная лесостепь, ПТ – подтайга.



**Ареалогический состав**

Фауна муравьев Южного Зауралья представлена видами с широким распространением (см. табл. 4). По долготной составляющей в Южном Зауралье половина всех выявленных видов (24 вида, 50%) имеет западно-центрально-

но-палеарктическое распространение. Довольно многочисленна транспалеарктическая группа (17 видов, 35.4%). Остальные группы представлены одним-двумя видами (2.1–4.1%). Один вид имеет голарктическое распространение *Myrmica ruginodis* Nyl.

Таблица 4

**Распределение муравьев Южного Зауралья по широтной и долготной ареалогическим группам, %**

Группа ареалов по долготной составляющей	Группа ареалов по широтной составляющей						
	АБ	АТ	Б	С	Т	ТС	Всего
Ц	–	2.1	–	–	–	–	2.1
ТП	4.1	4.1	10.4	2.1	10.4	4.1	35.4
АП	–	–	–	–	2.1	–	2.1
ТЕ	–	–	–	–	2.1	–	2.1
ЗЦП	–	2.1	6.2	16.6	20.8	4.1	50.0
ЦП	–	–	–	2.1	–	–	2.1
ЦВП	–	–	–	–	4.1	–	4.1
ВП	–	–	–	–	2.1	–	2.1
Всего	4.1	8.3	16.6	20.9	41.6	8.3	100

Примечание. Группы ареалов по долготной составляющей: АП – амфипалеарктическая, ВП – восточно-палеарктическая, ЗЦП – западно-центрально-палеарктическая, ТП – транспалеарктическая, ТЕ – трансевро-азиатская, Ц – циркумареал, ЦВП – центрально-восточно-палеарктическая, ЦП – центрально-палеарктическая. Группы ареалов по широтной составляющей: АБ – аркто-бореальная, АТ – аркто-температная, Б – бореальная, С – суббореальная, Т – температурная, ТС – температурно-субтропическая.

По широтной составляющей в Южном Зауралье преобладают виды с температурным распространением (20 видов или 41.6%), приуроченные главным образом к областям с умеренно теплым и влажным климатом (см. табл. 4). Большая часть видов в температурной широтной группе представлена западно-центрально-палеарктическими (20.8%) и транспалеарктическими (10.4%) видами. 10 видов (20.9%) обитает в суббореальном поясе, который по теплообеспеченности климата не уступает температурному, однако значительно менее влажный. В данной широтной группе большинство видов также имеют западно-центрально-палеарктическое распространение. Бореальные виды, предпочитающие умеренно холодные и относительно влажные условия обитания, составляют 16.6% (8 видов) мирмекофауны региона. Среди них преобладают виды с транспалеарктическим распространением, для которых характерна высокая степень толерантности к климатическим условиям. В аркто-температном и температурно-субтропическом поясах распространены по 4 (8.3%) вида муравьев, в основном представленные транспалеарктиками, а также центрально-

палеарктиками. Для одного из представителей данной широтной группы *Myrmica ruginodis* Nyl. характерен циркумареал. Наименьшее количество видов в Южном Зауралье характеризуются аркто-бореальным распространением (2 вида, или 4.1%). Данный пояс характеризуется холодным и влажным климатом, как следствие здесь представлены только транспалеарктики.

Анализ ареалов мирмекофауны геоботанических подзон исследуемой территории показал, что во всех подзонах преобладают виды с западно-центрально-палеарктическим распространением (рис. 3). При продвижении с юга на север региона увеличивается доля транспалеарктических видов, что связано с понижением теплообеспеченности и повышением влажности климата на севере исследуемой территории. Так, сумма активных температур в степной зоне составляет 3200–3600 °С, в подтайге – всего 2000–2500 °С, а годовая сумма осадков в степи в два раза ниже, чем в подтайге (250–500 и 500–700 мм, соответственно) [25].

По широтному распределению большинство видов во всех подзонах характеризуется температурным распространением. Доля таких видов

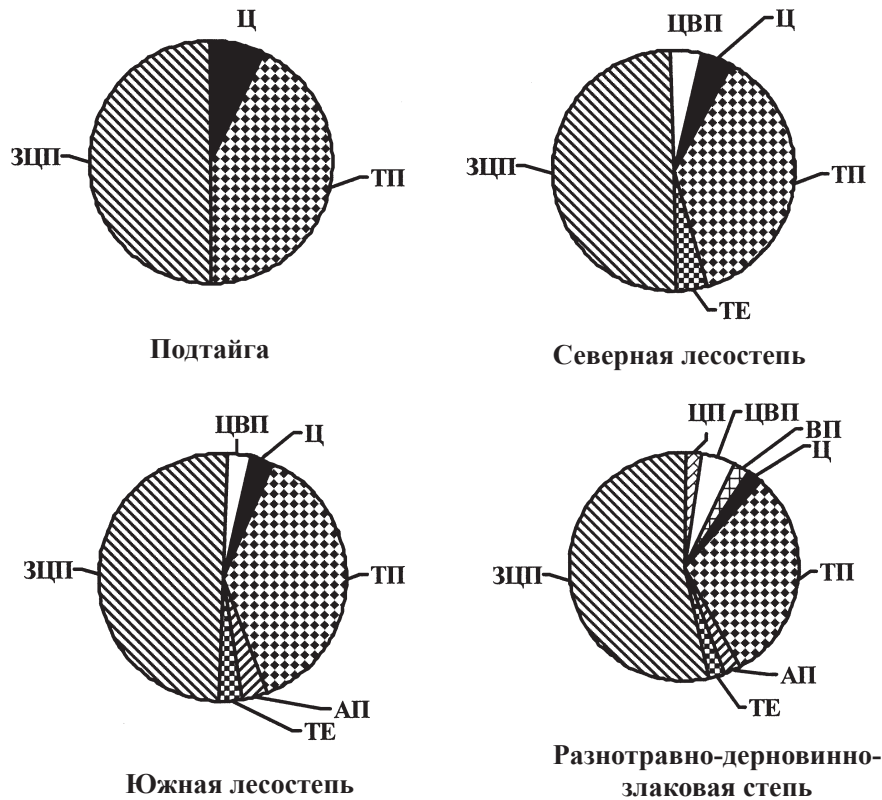


Рис. 3. Ареалогический состав мирмекофауны геоботанических подзон по долгой составляющей ареала: АП – амфипалеарктический, ВП – восточно-палеарктический, ЗЦП – западно-центрально-палеарктический, ТП – транспалеарктический, ТЕ – транссеверо-азиатский, Ц – циркумареал, ЦВП – центрально-восточно-палеарктический, ЦП – центрально-палеарктический

достигает максимального значения (50%) в северной лесостепи и подтайге (см. рис. 4), которые характеризуются наиболее влажным климатом и умеренными температурами. Доля видов с бореальным и суббореальным распространением также оказалась достаточно высока во всех геоботанических подзонах. Это объясняется наличием биотопов, благоприятных для обитания видов этих групп (сосновые, березовые и осиновые леса, березово-осиновые колки, тополевые и ивово-тополевые рощи, прирусловые ивняки, разнотравные луга и др. [1]). На территории Южного Зауралья лесные биотопы в небольшом количестве представлены и в дерновинно-злаковой степи. Кроме того, некоторые типичные бореальные виды, например *Myrmica lobicornis* Nyl. и *M. scabrinodis* Nyl., в этой подзоне были найдены не только в лесных биотопах, но и на открытых участках с менее дренированными почвами и ограниченным стоком воды (например, вдоль дорог), которые благодаря более влажным условиям характеризуются мезофитной растительностью.

В лесостепной зоне увеличивается доля аркто-температных видов, при этом доля суббореальных видов в лесостепи сокращается. Доля бореальных видов, напротив, достигает максимального значения (20.8%) в подзоне северной лесостепи. Прежде всего, это связано с наличием большого количества разнообразных лесных биотопов (сосновые боры, березовые и осиново-березовые леса, тополевые рощи, черноольшаники и т.д.). Более высокая доля бореальных видов в лесостепи по сравнению с подтайгой, вероятно, объясняется большей степенью изученности центральной части региона (см. рис. 1). Есть основания полагать, что при дальнейшем исследовании областей, находящихся на севере региона в подтаежной зоне (юго-восток Свердловской, восток Челябинской и юг Тюменской областей России) и на юге в подзоне дерновинно-злаковых степей (север Кустанайской и Северо-Казахстанской областей Казахстана), может измениться как список видов муравьев, обитающих в разных подзонах Южного Зауралья, так и соотношение видов различных ареалогических групп.



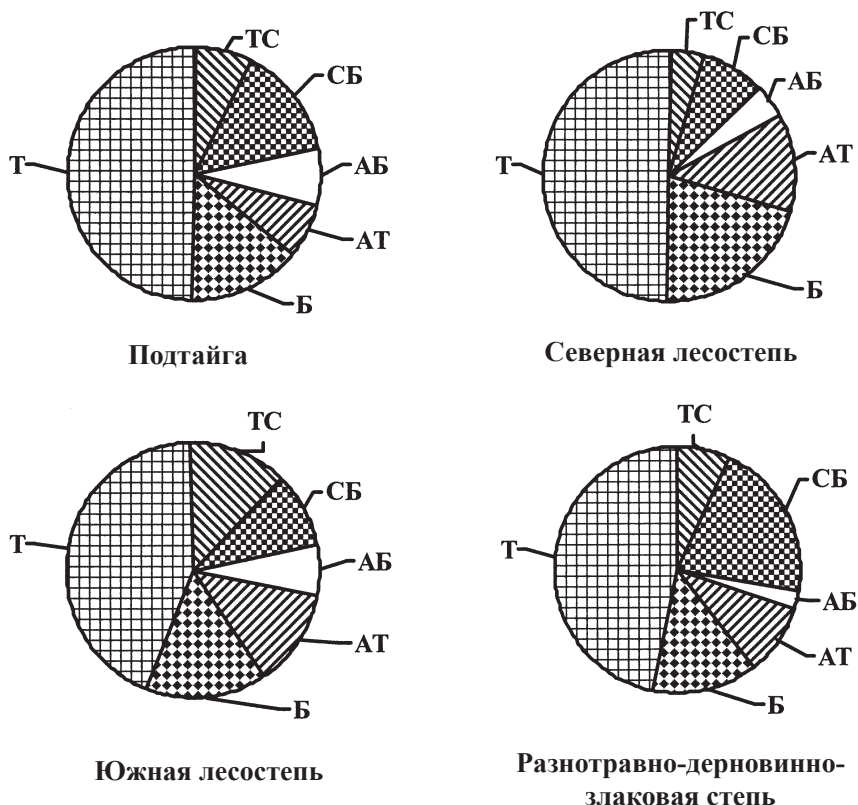


Рис. 4. Ареалогический состав мирмекофауны геоботанических подзон по широтной составляющей ареала: АБ – аркто-бореальный, АТ – аркто-температный, Б – бореальный, С – суббореальный, Т – температурный, ТС – температурно-субтропический

Таким образом, на территории Южного Зауралья при продвижении с юга на север число видов родов постепенно уменьшается. Наибольшее число видов и максимальная степень оригинальности фауны выявлены для подзоны разнотравно-дерновинно-злаковой степи. Основная часть мирмекофауны региона состоит из видов, широко распространенных в Палеарктике (западно-центрально-палеарктических и транспалеарктических), которые представлены, главным образом, в температурном, суббореальном и бореальном поясах.

Автор искренне признателен О. Ю. Южиковой и А. В. Гаврилюку за помощь в сборе материала.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект №13-04-00268), Президиума РАН по программе «Живая природа» (грант № 30.14).

#### Список литературы

1. Науменко Н. И. Флора и растительность Южного Зауралья. Курган : Курган. гос. ун-т, 2008. 512 с.

2. Балахонова В. А. Клопы-щитники (Heteroptera : Plataspidae, Cydnidae, Acanthosomatidae, Scutelleridae, Pentatomidae) Южного Зауралья : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Курган, 1998. 22 с.

3. Сорокина В. С. Широтное распространение сирфид (Diptera, Syrphidae) на территории Южного Зауралья // Евразият. энтомол. журн. 2006. Т. 5, вып.1. С. 69–76.

4. Крюков В. Ю. Разноусые чешуекрылые (Lepidoptera, Macroheterocerata) – филофаги основных древесных растений Южного Зауралья : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 2003. 22с.

5. Длусский Г.М. Муравьи рода Формика. М. : Наука, 1967. 236 с.

6. Длусский Г. М. Принципы организации семьи у общественных насекомых // Поведение насекомых. М. : Наука, 1984. С. 3–25.

7. Hölldobler B., Wilson E. The Ants. Springer. 1990. 732 p.

8. Hölldobler B., Wilson E. The Superorganism : The Beauty, Elegance and Strangeness of Insect Societies. W.W. Norton, 2008. 576 p.

9. Keller L., Gordon E. The Lives of Ants. Oxford University Press, 2009. 252 p.

10. Bolton B. An Online Catalog of the Ants of the World. 2013. URL: <http://www.antcat.org> (дата обращения: 07.07.2013).



11. Рузский М. Д. Муравьи России. Ч. 1 // Тр. Об-ва естествоиспытателей при Имп. Казан. ун-те. 1905. Т. XXXVIII, вып. 4–6. 799 с.
12. Уткин Н. А. Простейшие и беспозвоночные Курганской области. Список известных видов. Курган : Курган. гос. ун-т, 1999. 363 с.
13. Гридина Т. И. Анализ лесостепного и степного фаунистических комплексов Урала и прилегающих к нему территорий // Материалы XI мирмекол. симпозиума. Пермь : Изд-во Перм. ун-та, 2001. С. 137–140.
14. Гридина Т. И. Муравьи Урала и их географическое распределение // Успехи современной биологии. 2003. Т. 123, вып.3. С. 289–298.
15. Гилев А. В. Краткая история и перспективы мирмекологических исследований Курганской области // Региональные проблемы природопользования и охраны окружающей среды. Куртамыш : Куртамыш. типогр., 2008. С.280–281.
16. Чичков Б. М., Лагунов А. В., Гилев А. В. Муравьи рода *Formica* Челябинской области // Вестн. Оренбург. ун-та. 2008. Т. 88, № 6. С. 146–149.
17. Гилев А. В., Кузьмин И. В., Столбов В. А., Шейкин С. Д. Материалы к фауне и экологии муравьев (Formicidae) южной части Тюменской области // Вестн. Тюмен. гос. ун-та. 2012. № 6. С. 86–91.
18. Рябинин А. С., Новгородова Т. А. Фауна муравьев (Hymenoptera, Formicidae) Южного Зауралья // Евразият. энтомол. журн. 2013. Т. 12, вып. 2. С. 161–166.
19. Резникова Ж. И. Методы исследований поведения и межвидовых отношений муравьев в полевых условиях // Евразият. энтомол. журн. 2009. Т. 8, вып. 3. С. 265–278.
20. Городков К. Б. Типы распространения двукрылых гумидных зон Палеарктики // Двукрылые насекомые, их систематика, географическое распространение и экология / под ред. О. А. Скарлато. Л. : Зоологич. ин-т АН СССР, 1983. С. 26–33.
21. Городков К.Б. Типы ареалов тундры и лесных зон Европейской части СССР // Ареалы Европейской части СССР. Л. : Наука, 1984. С. 3–20.
22. Городков К. Б. Типы ареалов двукрылых насекомых (Diptera) Сибири // Систематика, зоогеография и кариология двукрылых насекомых (Insecta: Diptera) / под ред. Э. П. Нарчук. СПб. : Зоолог. ин-т РАН, 1992. С. 45–56.
23. Песенко Ю. А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. М. : Наука, 1982. 287 с.
24. Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. М. : Мир, 1992. 179 с.
25. Голованов А. И., Кожанов Е. С., Сухарев Ю. И. Ландшафтоведение. М. : Колосс, 2005. 216 с.

УДК: 612.465:612.451]:613.86:53.097

## ГИСТО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОРТИКАЛЬНЫХ И ОКОЛОМОЗГОВЫХ НЕФРОНОВ ПОЧКИ ПРИ РЕАКЦИИ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ СТРЕСС



В. Д. Тупикин, Е. Б. Родзаевская, И. А. Уварова, Л. Н. Шорина<sup>1</sup>

Саратовский государственный университет

<sup>1</sup>Саратовский государственный медицинский университет

E-mail: vovatur1983@mail.ru

В статье анализируются оригинальные данные гистохимических, энзимохимических исследований, микроморфометрии дифференцированной реакции кортикальных и юкстамедуллярных нефронов почки при стрессе. Обсуждается возможный механизм избирательного повреждения клубочков и других компонентов корковых и около мозговых нефронов.

**Ключевые слова:** почка, стресс, корковые и около мозговые нефроны.

### Histology and Functional Characteristic of the Cortical and Juxtamedullary Nephrons in Kidney under Stress at Experiment

V. D. Tupikin, H. B. Rodzaevskaya, I. A. Uvarova, L. N. Sorina

In the abstract the original data of histochemical, enzymochemical and morphometrical reactions in cortical and juxtamedullary nephrons of the

kidney under the stress influence is analyzed. The possible mechanism of elective damages in nephrons glomeruli and other components of the cortical and juxtamedullary nephrons is discussed.

**Key words:** kidney, stress, cortical and juxtamedullary nephrons.

Известно, что первичной эффекторной мишенью стресса являются надпочечники, и в ряде наших работ была продемонстрирована тесная положительная корреляция между важнейшими морфометрическими параметрами почки и надпочечников при моделировании иммобилизационного стресса у белых крыс [1, 2]. Это служит доказательством того, что почки и надпочечники представляют собой единую функциональную систему, чутко и координированно реагирующую на стресс. Между тем детальные реактивные изменения отдельных компонентов коркового и



мозгового вещества почечной паренхимы при психо-эмоциональном стрессе с болевым компонентом, к которому относится длительная насильственная иммобилизация (в наших опытах применялась иммобилизация на спине в течение 5 дней по три часа ежедневно), в специальной литературе отсутствуют.

Цель работы – определить структурно-функциональное состояние почки крысы в условиях экспериментального стресса, дифференцированно изучив реактивные преобразования корковых и околomозговых нефронов, а также сосудистой системы и интерстиция коркового и мозгового вещества.

### Материалы и методы

Проведен эксперимент на 25 самцах белых крыс массой 160–175 г. Применялись общегистологические (окраска гематоксилин-эозином, окраска на ретикулярные волокна по Футу) и гистохимические (окраска кармином на выявление углеводов и гликогена в клетках канальцев, толуидиновым синим – для выявления гамма-метахромазии межклеточного вещества, пиронином G – для выявления РНК) методы анализа обеих почек (всего 50 объектов), исследовалась активность ферментов – щелочной фосфатазы и миелопероксидазы в клетках канальцевого эпителия кортикальных и околomозговых нефронов, проведен статистический анализ важнейших микроморфометрических показателей паренхиматозных структур для кортикальных (КН) и юкстамедуллярных нефронов (ЮМН).

### Результаты и их обсуждение

Было установлено, что почка является органом, весьма динамично и реактивно трансформирующимся при стрессе. Прежде всего обнаружено достоверное увеличение массы органа, освобожденного от околomозговой жировой ткани, при стрессе относительно группы сравнения (табл. 1). Микроскопически почка животных группы сравнения выглядела следующим образом: орган, состоящий из одной доли, покрыт тонкой соединительнотканной капсулой, снаружи от которой определяются группы жировых клеток. Соотношение длин коркового и мозгового вещества у взрослой особи на аксиальном срезе почки составляет 1:1. Корковое вещество, в обзорных видах окраски имеющее более темный цвет, представлено паренхимой – почечными тельцами корковых нефронов, их проксимальными и дистальными извитыми канальцами, участками прямых и тонких канальцев, а также радиально располагающимися

пучками собирательных трубочек, образующих «мозговые лучи», собирающих ультра-фильтрат от верхнекортикальных и подкапсульных нефронов. Строма коркового вещества представлена капиллярами перитубулярной системы и кортикальными сосудами: междольковыми и внутридольковыми артериями, междольковыми и звездчатыми венами, лимфатическими сосудами, а также небольшим количеством рыхлой неоформленной соединительной ткани – специфическим интерстицием коркового вещества.

Таблица 1

Влияние иммобилизационного стресса на массу почки самцов белых крыс

Группа подопытных животных	$M \pm m$ , мг
Контроль (10 особей)	869±18,5
Иммобилизация (15 особей)	1120±19,7*

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: \* –  $p \leq 0,05$ .

Ретикулярные волокна стромы по ходу базальных мембран почечных телец, канальцев и капилляров, определяемые в окраске водным раствором азотнокислого серебра по Футу, располагались равномерно, без признаков неравномерного усиления рисунка или дезорганизации. При окраске кармином в клетках капсулы клубочка и в канальцевом эпителии выявлялись углеводы. В окраске на РНК пиронином G по Браше в ядрышках нефроцитов и в их цитоплазме выявлялись рибонуклеопротеиды, что свидетельствует об активной ядерной транскрипции и синтезе белка в цитоплазме клеток выстилающего эпителия. Высокая активность щелочной фосфатазы гистохимически определялась в апикальной зоне щеточной каемки выстилающего эпителия проксимальных канальцев.

Условия иммобилизационного стресса изменяли практически все морфометрические и функциональные показатели паренхимы почки как в зоне коркового, так и мозгового вещества (табл. 2, 3). В целом в структуре паренхиматозных элементов почки как для корковых нефронов (КН), так и для юкстамедуллярных (ЮМН) наблюдалась преимущественная гипертрофия почечных телец и капиллярных клубочков, значительное (в несколько раз) увеличение площади просвета капсулы Боумена–Шумлянско-го, расширение всех видов канальцев (наиболее заметное в дистальном сегменте), в канальцевом эпителии всех отделов обоих видов нефронов наблюдались признаки капельной дистрофии и вакуолизация цитоплазмы от умеренной до значительно выраженной.



Таблица 2

**Морфометрические параметры структур корковых нефронов почки при стрессе,  $M \pm m$** 

Морфометрический параметр	Группа сравнения	Группа «стресс»
Площадь почечных телец, $S_1$ , мкм <sup>2</sup>	6593,2±85,6	8451,4 ±326*
Площадь просвета Боуеновой капсулы, $S_2$ , мкм <sup>2</sup>	39,5±2	339,4±21*
Площадь клубочка почечного тельца корковых нефронов, $S_3$ , мкм <sup>2</sup>	6547,1±40,4	7648,6±326,8*
Наружный диаметр проксимального канальца, $d_1$ , мкм	41,9±0,8	48,4±1,4*
Высота нефроцитов проксимального канальца, $h_1$ , мкм	11,3±0,3	11,5±0,4
Наружный диаметр дистального канальца, $d_2$ , мкм	30±0,8	40,5±0,6*
Высота нефроцитов дистального канальца, $h_2$ , мкм	8,8±0,3	7,6±0,2*
Наружный диаметр просвета тонкого канальца, $d_3$ , мкм	9,4±0,3	11,6±0,7*
Наружный диаметр собирательной трубочки мозгового луча, $d_4$ , мкм	32,8±0,4	40,2±0,9*

Таблица 3

**Морфометрические параметры структур юкстамедуллярных нефронов почки при стрессе,  $M \pm m$** 

Морфометрический параметр	Группа сравнения	Группа «стресс»
Площадь почечных телец, $S_1$ , мкм <sup>2</sup>	6678,8±51,7	9472,4±349,8*
Площадь просвета Боуеновой капсулы, $S_2$ , мкм <sup>2</sup>	45,3±1,9	862,3±128*
Площадь клубочка почечного тельца корковых нефронов, $S_3$ , мкм <sup>2</sup>	6682,7±32,1	7397,3±663,2*
Наружный диаметр проксимального канальца, $d_1$ , мкм	41,7±0,9	50,8±1,4*
Высота нефроцитов проксимального канальца, $h_1$ , мкм	11,3±0,3	12,7±0,6*
Наружный диаметр дистального канальца, $d_2$ , мкм	28,5±0,8	47,8±1,4*
Высота нефроцитов дистального канальца, $h_2$ , мкм	9±0,3	5,9±0,4*
Наружный диаметр просвета тонкого канальца, $d_3$ , мкм	10,3±0,3	11,7±0,7*
Наружный диаметр собирательной трубочки в области кортико-медуллярной границы, $d_4$ , мкм	35,6±0,6	44±1,4*

Морфометрические параметры как кортикальных, так и юкстамедуллярных нефронов стрессированных крыс существенно отличались от показателей у крыс группы сравнения и характеризовались высокой вариабельностью. Большинство из них было резко гипертрофировано за счет выраженного полнокровия клубочков почечных телец и интерстиция коркового вещества. Очевидно, нарушением процесса фильтрации в почечных тельцах корковых нефронов и полнокровием мозгового вещества объясняется достоверное увеличение массы органа при стрессе. Помимо полнокровия, наблюдалось резкое нарушение кровообращения в виде кровоизлияний в различных зонах: в полость почечного тельца, в перитубулярной системе сосудов, в области прямых сосудов мозгового вещества. Структура стенки крупных почечных сосудов находилась в состоянии

дезорганизации, имела признаки гамма-метахромазии основного вещества и была утолщена за счет плазматического пропитывания. Однако наряду с гипертрофированными нефронами имелись случаи атрофических изменений: в структуре некоторых почечных телец часто наблюдалось спадение, коллабирование клеток внутреннего листка капсулы и капилляров клубочка, сопровождающиеся резким увеличением Боуенова пространства, что можно диагностировать как экссудативную гломерулопатию. Очевидно, что глубокая ишемия клубочковых гемокапилляров, как следствие декомпенсации клубочковой функции, свидетельствует о выключении данного нефрона из процесса фильтрации. Необходимо отметить, что вариативность морфометрических показателей у юкстамедуллярных нефронов была выражена сильнее, чем у корковых. Объяснить



этот факт с биологических позиций можно, учитывая функцию около мозговых нефронов, которые выполняют роль шунтирования крови, и перераспределение кровотока при стрессе отражается на их структурно-функциональном состоянии в наибольшей степени. Просвет канальцев обоих видов нефронов был расширен, это касалось прежде всего дистального сегмента канальцевой системы как у кортикальных, так и у около мозговых нефронов. Известно, что дистальный отдел канальцев нефрона наиболее чувствителен к нарушению обеспечения кислородом. Поскольку одним из ведущих метаболических проявлений стресса является дефицит энергии и гипоксия, наибольшая степень повреждения именно дистального отдела становится понятной [3]. Выстилающий эпителий имел признаки не только зернистой белковой дистрофии, вакуольной дистрофии, но и зонально выраженного колликвационного некроза. Подвергшиеся некрозу и цитолизу клетки были частично десквамированы в просвет канальцев. Ядра десквамированных нефроцитов находились в состоянии пикноза и рексиса. Дистальные канальца около мозговых нефронов, имеющие наиболее выраженные

признаки структурно-функциональных нарушений, иногда имели вид полых трубок без выстилающего эпителия.

В окраске кармином наблюдалось исчезновение запасов гликогена в цитоплазме нефроцитов. В окраске на нуклеиновые кислоты (РНК) по Браше наблюдалось исчезновение ядрышек в ядре и пиронинофильного материала в цитоплазме нефроцитов. В окраске по Футу на ретикулярные волокна в структуре вокруг канальцевой интерстициальной ткани и по ходу базальных мембран отмечена неравномерность рисунка, дезорганизация. Активность щелочной фосфатазы в области щеточной каемки апикальной зоны нефроцитов проксимальных канальцев была резко снижена. Активность миелопероксидазы, напротив, при стрессе возрастала и отчетливо определялась в клетках эпителия не только проксимального, но и дистального отдела канальцев, что отражает усиление процессов эндогенной детоксикации в клетке при стрессе. Микрофотографии, позволяющие сделать сравнительный анализ гистофункционального состояния почки в группе сравнения и при стрессе, представлены на рис. 1–4.

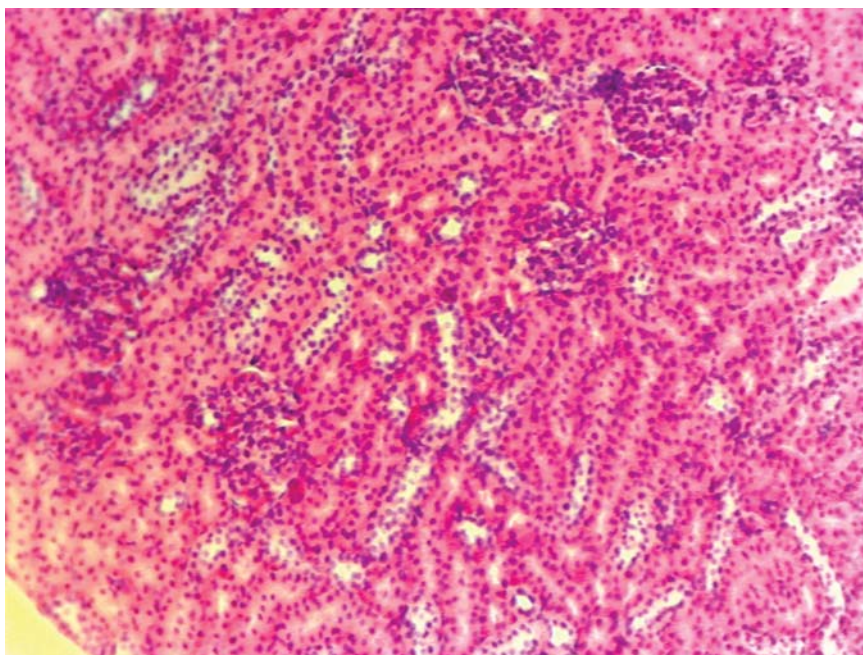


Рис. 1. Кортиковое вещество почки крысы в группе сравнения. Отчетливо дифференцируются профили проксимальных и дистальных канальцев. Эпителий проксимальных канальцев высокий цилиндрический, просвет канальца почти не определяется, дистальные канальца выстланы кубическим эпителием, просвет четкий. В структуре клубочков различимы сосуды и клетки висцерального листка почечного тельца. Полость капсулы почечного тельца выглядит как узкая светлая полоска вокруг клубочка.

Окраска: гематоксилин-эозин, ув.  $\times 200$

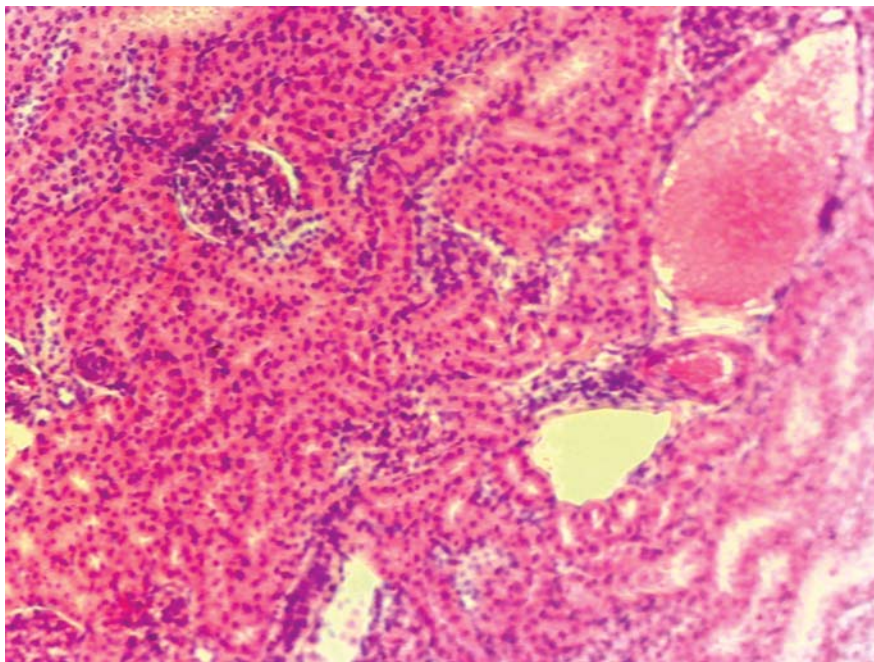


Рис. 2. Кортико-медуллярная зона почки крысы в группе сравнения. Отчетливо определяются дуговые сосуды – артерия, вена и лимфатический сосуд. Дифференцируются проксимальные и дистальные каналцы, клубочек юкстамедуллярного нефрона окружен светлым узким пространством полости капсулы Боумена–Шумлянского. Окраска: гематоксилин-эозин, ув.  $\times 200$ .

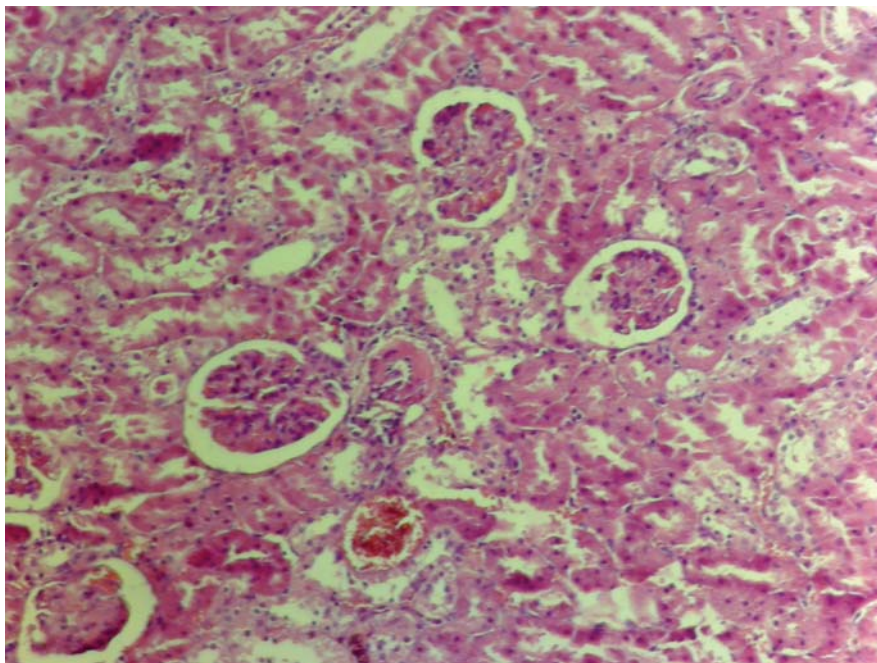


Рис. 3. Почки в области коркового вещества при стрессе. Расширение полости капсулы почечного тельца, кровоизлияние в полость почечных телец, плазматическое пропитывание, фибриноидное набухание стенки междольковых артерий. Дистрофия канальцевого эпителия. Окраска: гематоксилин-эозин, ув.  $\times 200$

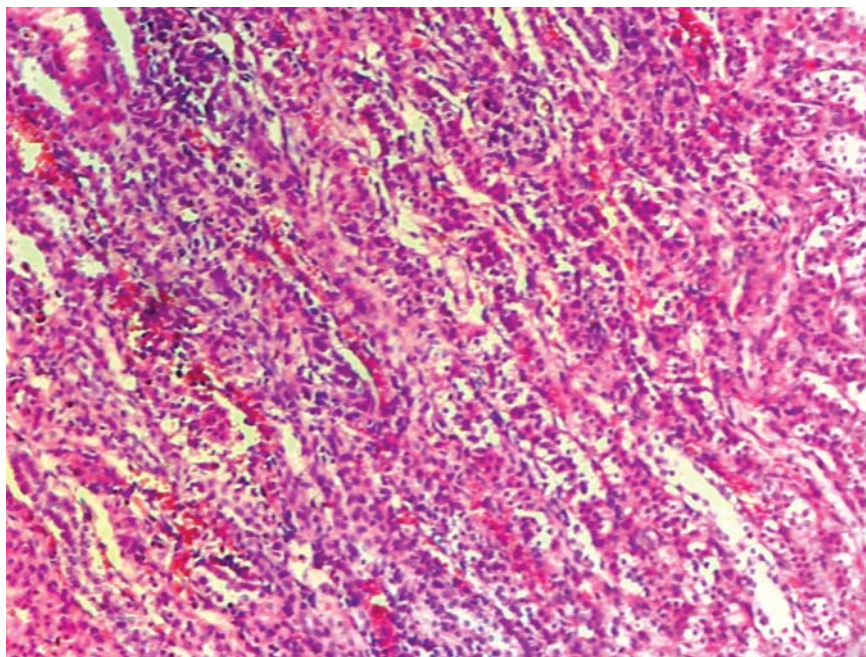


Рис. 4. Полнокровие и полиморфноклеточная инфильтрация интерстиция, дистрофия выстилающего эпителия собирательных трубочек мозгового вещества при стрессе. Окраска: гематоксилин-эозин, ув.  $\times 200$

Реактивные изменения почечных телец при стрессе были разнообразны. Руководствуясь морфометрическими критериями и комплексом гистофункциональных изменений, мы считаем целесообразным представить табл. 4, в которой даны границы измененных морфометрических показателей почечных телец корковых и юкста-

медуллярных нефронов и параллельно – функциональное значение этих изменений. По нашему мнению, представление результатов в таком виде может облегчить правильную диагностику состояния почечной паренхимы на каждом этапе эксперимента и дать объяснение морфологических данных с физиологических позиций.

Таблица 4

**Морфометрические и функциональные характеристики почечных телец кортикальных и юкстамедуллярных нефронов при стрессе**

Вид нефрона	Морфометрические параметры почечного тельца, $\text{мкм}^2$	Морфологическое заключение	Функциональное состояние	Доля от общего количества, %
КН	$S_1$ : 9200 – 6500 $S_2$ : 200 – 50 $S_3$ : 6790 – 8700	Гипертрофия почечного тельца, гиперемия его капилляров, с возможным формированием дольчатого клубочка, отек капсулы	Гиперфункция с нарушением компонентов почечного фильтра, с явлениями эксудативной гломерулопатии	69
	$S_1$ : 6800 – 6340 $S_2$ : 28 – 50 $S_3$ : 6380 – 6790	В пределах значений на уровне группы сравнения	Нормальная функция на этапе фильтрации	13
	$S_1$ : 7040 – 5200 $S_2$ : 50 – 2350 $S_3$ : 5150 – 3850	При резком увеличении объема полости капсулы и размеров почечного тельца наблюдается коллабирование клубочка с возможным формированием дольчатости, дистрофия клеток висцерального листка почечного тельца	Гипофункция, вплоть до атрофии, т.е. фильтрация не происходит, в исходе – выключение нефрона из процесса мочеобразования	18



Окончание табл. 4

Вид нефрона	Морфометрические параметры почечного тельца, мкм <sup>2</sup>	Морфологическое заключение	Функциональное состояние	Доля от общего количества, %
ЮМН	$S_1$ : 6800 – 11000 $S_2$ : 400 – 1940 $S_3$ : 6700 – 10400	Резкое увеличение размеров почечного тельца, объема мочевого пространства, гиперемия клубочковых гемокapилляров	Гиперфункция шунтирующей способности около мозгового нефрона, экссудативная гломерулопатия, полнокровие гемокapилляров клубочка	76
	$S_1$ : 6400 – 6800 $S_2$ : 34 – 55 $S_3$ : 6390 – 6700	Нормофункция для этой категории нефронов	Адекватный объем шунтирования крови в условиях стресса	8
	$S_1$ : 6800 – 9700 $S_2$ : 400 – 1940 $S_3$ : 3800 – 5300	При наличии увеличенных параметров площади почечного тельца и резко расширенного пространства капсулы клубочки дистрофически, атрофически изменены, капилляры спавшиеся	Гипофункция шунтирующих нефронов вплоть до их атрофии	14

Данные табл. 4 доказательно свидетельствуют, что наиболее информативным критерием оценки гистофункционального состояния КН и ЮМН является морфология и морфометрические характеристики именно почечного тельца, как в случае гипофункции нефрона (что сопровождается коллабированием капилляров и дистрофическими изменениями клеток висцерального отдела капсулы почечного тельца), так и при его гиперфункции (морфологически проявляющейся гиперемией капилляров, гипертрофией и гиперплазией всех элементов клубочка) чрезвычайно широка вариабельность показателя площади почечного тельца и площади мочевого пространства (при всех вариантах изменения нефронов они в подавляющем большинстве случаев превышают контрольный уровень). Руководящим соображением в выборе параметра было то обстоятельство, что клубочковому аппарату принадлежит иницирующая и важнейшая роль в процессе мочеобразования; изменения клубочков были наиболее многообразны и не всегда однонаправлены. Лабильность и амплитуда реактивных изменений морфометрических параметров клубочков почечных телец, установленная в ходе данного этапа эксперимента, предполагают отдельные исследования стрессогенных эффектов в клубочковом аппарате нефрона. Структурный полиморфизм нефронов является отражением активного компенсаторно-приспособительного процесса, в результате чего происходит замещение функции дистрофиче-

ски измененных почечных телец нефронов за счет интенсификации функциональной отдачи элементов, относительно сохранных на данном этапе в структурном отношении.

### Заключение

Морфофункциональное исследование почки при применении 5-дневного курса иммобилизационного стресса (по 3 ч ежедневно) позволило достоверно установить высокую чувствительность органа к данному фактору; очевидно, что в процесс компенсаторно-приспособительной перестройки вовлекаются все отделы и компоненты нефронов и сосудистая система, и прежде всего микроциркуляторное русло, а также другие сосуды; установлена широкая вариабельность структурно-функциональной перестройки паренхимы коркового вещества и элементов кортико-медуллярной зоны при стрессе. Найденные морфометрические и гистохимические характеристики могут иметь прогностическое и диагностическое значение. Тот факт, что юкстамедуллярные нефроны оказались чрезвычайно чувствительны к условиям иммобилизационного стресса, указывает на их активнейшую роль в процессе адаптации органа к стрессу. Коллабирование почечных телец, кровоизлияния в полость капсулы почечного тельца свидетельствуют о выключении части нефронов из процесса мочеобразования (как корковых, так и юкстамедуллярных), что снижает ресурс адаптации почки к неблагоприятным воздействиям в дальнейшем.



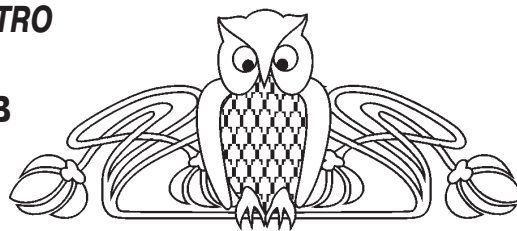


## Список литературы

1. Полина Ю. В., Родзаевская Е. Б., Наумова Л. И., Михлина Н. В., Тупикин В. Д. Избирательное действие различных частотных режимов ЭМИ на гистофункциональную картину и гормональную активность почек и надпочечников при стрессе // Естественные науки. 2007. № 4. С. 43–47.
2. Тупикин В. Д., Полина Ю. В., Уварова И. А., Наумова Л. И., Родзаевская Е. Б., Бугаева И. О. Эффекты низкоинтенсивного электромагнитного излучения в структуре почек и надпочечников изолированно и при стрессе // Астрахан. мед. журн. 2010. № 1. С. 282–285.
3. Серов В. В. Функциональная морфология почек // Клиническая нефрология. 1993. Т. 1. С. 9–33.

УДК 581.143.6+582.5

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА КУЛЬТУРЫ *IN VITRO* ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ КАЛЬЦЕФИЛЬНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ



Т. А. Крицкая, А. С. Кашин

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

Впервые была получена стерильная культура *in vitro* *Potentilla vulgarica*. Усовершенствована методика клонального микро-размножения *Silene cretacea*. Стерилизованные семена проращивали на питательной среде Мурашиге и Скуга без фитогормонов. Для активации пазушных меристем полученные проростки пересаживали на среды с различным минеральным составом и регуляторами роста. Было установлено, что подобранное нами сочетание фитогормонов, обозначенное условно «SCS», является оптимальным для быстрого получения большого количества регенерантов целого ряда апробированных кальцефильных видов растений. Также было отмечено, что оптимальной средой для культивирования выбранных объектов является Woody Plant Medium. Полученные результаты могут служить основой в дальнейшей работе по сохранению исследуемых объектов в культуре *in vitro*.

**Ключевые слова:** *Potentilla vulgarica*, *Silene cretacea*, культура *in vitro*, генобанк, редкие и исчезающие виды растений, Саратовская область.

### Use of *in vitro* Culture Techniques for Conservation of Some Endangered Calciphilic Plant Species of Saratov Region

T. A. Kritskaya, A. S. Kashin

A sterile culture *in vitro* *Potentilla vulgarica* was obtained for the first time. The algorithm for micropropagation *Silene cretacea* was refined. Sterilized seeds were germinated on Murashige and Skoog medium without plant hormones. To activate the axillary meristems resulting seedlings were transplanted to medium with different mineral components and growth regulators. It has been found that the combination of chosen phytohormones designated as «SCS» is optimal for rapid preparation of a large number of regenerated

plants of a wide range of calciphilic species. It was also noted that the optimum medium for the cultivation of the selected objects is Woody Plant Medium. The results can serve as a basis for further work on the preservation of the objects under investigation in the culture *in vitro*.

**Key words:** *Potentilla vulgarica*, *Silene cretacea*, *in vitro* culture, genetic resources, endangered plant species, Saratov region.

### Введение

Сохранение биоразнообразия растительного мира – одна из важнейших задач, стоящих перед современной биологической наукой. Существует два основных способа решения данной проблемы: *in situ* – создание особо охраняемых природных территорий и сохранение экосистем в целом, и *ex situ* – сохранение представителей исчезающих видов в коллекциях ботанических садов, а также хранение и поддержание растительного материала в так называемых генетических банках при низких температурах. В идеальном варианте эти мероприятия должны осуществляться в комплексе и дополнять друг друга [1–5]. Основу системы сохранения биоразнообразия дикорастущих растений России *ex situ* составляют ботанические сады. В их коллекциях представлено около 1/3 флоры России [6].

Известно, что Саратовская область является одним из динамично развивающихся регионов Поволжья, по многим показателям занимающая



ведущие позиции в сфере природоохранной деятельности. Тем не менее, на её территории наблюдается тенденция к сокращению биоразнообразия. Во втором издании «Красной книги Саратовской области» (2006) приведён перечень из 256 редких и исчезающих видов покрытосеменных растений [7]. Из них около 20% являются факультативными или облигатными кальцефилами (*Potentilla vulgarica* Juz., *Silene cretacea* Fisch. ex Spreng., *Silene hellmannii* Claus, *Stipa cretacea* P. A. Smim., *Anabasis cretacea* Pall., *Matthiola fragrans* Bunge, *Astragalus zingeri* Korsh., *Hedysarum razoumovianum* Fisch. et Helm., *Hedysarum grandiflorum* Pall., *Helianthemum cretaceum* (Rupr.) Juz. ex Dobrocz., *Hyssopus cretaceus* Dubjan., *Linaria cretacea* Fisch. ex Spreng, *Scrophularia sareptana* Kleop. ex Ivanina, *Anthemis trotziana* Claus и др.). Узкая экологическая амплитуда, разработка меловых склонов и неумеренный выпас скота являются лимитирующими факторами для данных видов и наиболее частыми причинами их уязвимости.

Создание генетического банка *in vitro* является одним из наиболее актуальных и перспективных путей сохранения биоразнообразия. Однако реализация данного метода возможна лишь при соответствии растительного материала ряду жёстких требований. Во-первых, материал должен быть введен в культуру *in vitro* и освобождён от вредителей и патогенов; во-вторых, необходимо разработать эффективные методы клонального микроразмножения для каждого закладываемого на хранение генотипа в целях получения максимального количества растений-регенерантов, и, в-третьих, при хранении культуры в условиях замедленного роста должен быть необходимым и достаточным минимальный уход [8, 9].

Целью нашей работы являлось получение асептической, безвирусной культуры наиболее уязвимых кальцефильных видов растений Саратовской области и разработка эффективного способа их регенерации для последующего решения задач, связанных с сохранением данных видов в условиях замедленного роста.

В качестве модельных объектов исследования были выбраны смолёвка меловая и лапчатка волжская.

Смолёвка меловая (*Silene cretacea*, Caryophyllaceae) была обнаружена на территории Красноармейского района Саратовской области в 2008 г. сотрудниками Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского [10]. До этого вид не отмечался на территории

области более 150 лет, поэтому не вошел во второе издание «Красной книги Саратовской области». Смолёвка меловая занесена в Красную книгу Российской Федерации (2008) со статусом «Зв» – вид с узкой экологической амплитудой (эндемик Восточной Европы и Казахстана) [11], рекомендована к включению в третье издание Красной книги Саратовской области со статусом «вид, находящийся на грани исчезновения» [10], а также входит в список особо охраняемых растений Европы [12].

Лапчатка волжская (*Potentilla vulgarica*, Rosaceae) является узколокальным кальцефильным эндемиком Приволжской возвышенности и имеет категорию «1» – вид, находящийся под угрозой исчезновения – как в «Красной книге Саратовской области» [7], так и в «Красной книге Российской Федерации» [11]. В настоящее время вид сохраняется на территории национального парка «Хвалынский» [13] и памятника природы «Мухин дол» в Вольском районе, а также культивируется на участках открытого грунта учебно-научного центра «Ботанический сад» СГУ.

#### Материалы и методы

Смолёвка меловая – приземистый полукустарничек 5–30 см высотой, с многочисленными стеблями, одревесневающими в основании. Листья линейные, шероховатые по краям, иногда изогнутые. Корневая система стержневая на протяжении всей жизни растения. Цветёт в мае-июле. Плод – коробочка. Размножается семенами [11].

Лапчатка волжская – травянистый многолетник 15–20 см высотой с дважды перистыми листьями, рассеченными на очень узкие сегменты, внизу тонко войлочными-опушёнными. Корень стержневой, в верхней части утолщенный, с возрастом разделяющийся на каудексы. Цветёт в мае. Возможно повторное цветение во второй половине лета или осенью. Плод – многоорешек. Размножение семенное [7, 11].

Руководствуясь правилами сбора редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений для ботанических садов [14], в качестве исходных эксплантов брали зрелые семена растений. Сбор семян смолёвки меловой произвели в середине июня 2011 г. с интактных растений, произрастающих на территории УНЦ «Ботанический сад» СГУ. Семена лапчатки волжской собрали в конце июля 2012 г. из природной популяции на территории национального парка «Хвалынский». До начала проведения



экспериментов они хранились в бумажных конвертах при комнатной температуре.

Перед началом стерилизации семена погружали в раствор синтетического моющего средства «Pril» («Хенкель-ЭРА», Тосно) и экспонировали на лабораторной качалке 30 мин. После этого их многократно промывали дистиллированной водой.

Затем семена обрабатывали 70%-ным этиловым спиртом в течение 3–5 мин, после чего переносили в 25%-ный раствор (1:3) бытового отбеливателя «Белизна» («Электра», Волгоград) с добавлением 2–3 капель детергента «Tween 80» («Panreac Quimics», Европейский Союз) и экспонировали 20–30 мин на шейкере. На завершающем этапе стерилизации семена пятикратно промывали стерильной дистиллированной водой. В условиях ламинарного бокса («Lamsystems», Россия) семена перемещали на питательную среду.

Пробирки с семенами переносили в ростовую комнату для проращивания (23–25 °С, 16-часовой фотопериод, освещение 3000 люкс). Тридцатидневные проростки, отделённые от корней и нижних листьев, пересаживали на питательную среду с различными комбинациями фитогормонов (БАП («Alfa Aesar», Германия), зеатин («Duchefa Biochemie», Нидерланды), кинетин («Alfa Aesar», Германия), 2-изопентил-аденин (2-ip, «Santa Cruz Biotechnology», США) для подбора оптимальных условий прямой регенерации растений.

Инициальная питательная среда содержала макро- и микроэлементы по прописи Мурасиге и Скуга (MS) [15], а также сахарозу (30 г/л), мезоинозит (100 мг/л), тиамин (0.5 мг/л), пиридоксин (0.5 мг/л), никотиновую (0.5 мг/л) и аскорбиновую (1.0 мг/л) кислоты («Panreac Quimics», Европейский Союз). Концентрацию агар-агара («Panreac Quimics», Европейский Союз) брали 5–6 г/л для инициальной среды и 8 г/л – для остальных этапов культивирования, рН среды доводили до 5.8–6.1 перед автоклавированием. Для получения безвирусных проростков применяли метод хемотерапии [16], дополнив инициальную среду для проращивания семян препаратом «Виразол»® (2 мг/л) и исключив из неё фитогормоны. Стерилизацию инструментов и питательных сред проводили по стандартной методике [17].

Каждый эксперимент выполнялся в трёх повторностях, в каждой из повторностей брали не менее 30 эксплантов. Полученные данные подвергали математической обработке, включа-

ющей нахождение среднего значения, стандартного отклонения и доверительного интервала.

### Результаты и их обсуждение

Процент семян, свободных от фитопатогенов, при использовании изложенной выше методики стерилизации составил 100% для обоих объектов. Прорастание семян *P. vulgarica* наблюдали на 6–21-е сутки, *S. cretacea* – на 4–30-е сутки культивирования. Процент нежизнеспособных семян составил в среднем 8% для *P. vulgarica*, 20% – для *S. cretacea*. Применение бытового отбеливателя в качестве стерилизующего агента является экономически более выгодным, чем использование нитрата серебра, рекомендованного для обработки семян других видов лапчаток [18]. При этом выход жизнеспособных семян *P. vulgarica* не снижался. Количество стерильных эксплантов *S. cretacea* при использовании «Белизны» не уступало количеству, полученному с помощью препарата «Лизоформин-3000», рекомендованного по литературным данным [19].

Через 30 суток культивирования проростки эксплантировали на среду MS с добавлением следующих вариантов цитокининов: БАП 0.5 мг/л, кинетин 0.5 мг/л, зеатин 0.5 мг/л или 2-ip 0.5 мг/л. Контролем служила безгормональная среда MS. Через три недели производили подсчет коэффициента размножения, а также визуальную оценку общего состояния растений. Увеличение длительности пассажа приводило к некрозу прикорневых листьев и оводнению части регенерировавших микропобегов (до 20%).

### Смолёвка меловая

При культивировании *S. cretacea* на питательной среде MS с БАП 0.5 мг/л, рекомендованной для данного объекта [19], наблюдалось постепенное (через 3–4 пассажа) снижение жизнеспособности растительного материала, появление таких дефектов, как некроз эксплантов, разрастание каллусной ткани, появление антоциановой окраски и остановка морфогенеза (рис. 1). Выпад растений в этом случае составлял 54–56% за один пассаж, а коэффициент размножения –  $3.45 \pm 1.30$  микропобегов на эксплант. Апробирование других цитокининов также не дало положительных результатов: во всех случаях уже на 1 пассаже было отмечено усиленное нарастание каллуса, единичные адвентивные побеги и признаки некроза (табл. 1).

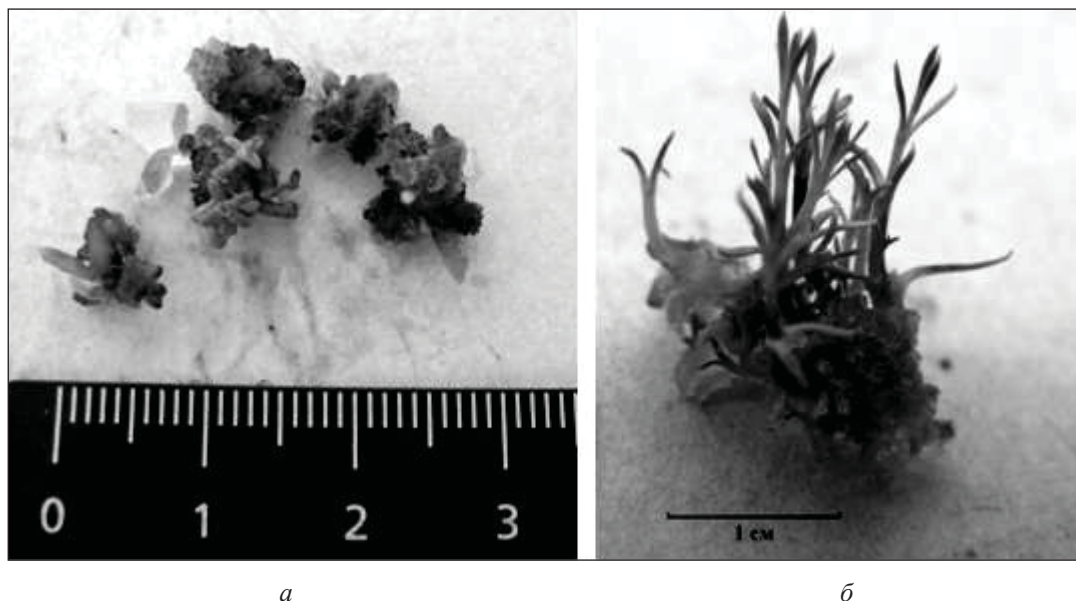


Рис. 1. Состояние эксплантов *S. cretacea* на питательной среде MS с БАП 0.5 мг/л (а) и SCS (б) через 21 сутки культивирования (5-й пассаж)

Таблица 1

Влияние регуляторов роста на адвентивное побегообразование *S. cretacea* (через 21 сутки культивирования)

Регулятор роста, мг/л	Количество регенерировавших микропобегов/эксплант, шт.	Количество элиминировавших эксплантов, %
Контроль	3.33±0.65	–
БАП 0.5	3.45±1.30	55.00
Кинетин 0.5	–	100.00
Зеатин 0.5	2.67±1.80	39.85
2-ip 0.5	0.86±0.56	85.71

Как уменьшение (до 0.1 мг/л), так и увеличение (до 1.0 мг/л) концентрации цитокининов в питательной среде не дало статистически достоверных различий в частоте морфогенеза исследуемого объекта. Субкультивирование на питательные среды с БАП и ИУК в соотношениях 1:1, 1:5, 5:1 завершилось гибелью всех эксплантов. Дальнейший подбор оптимальных условий регенерации *S. cretacea* осуществлялся путём усложнения сочетания регуляторов роста и варьирования минерального состава питательной среды (рис. 2). Вариант, на котором был получен наилучший результат, содержал макро- и микроэлементы по прописи WPM (Woody plant medium) [20] и сложное сочетание фитогормонов, обозначенное нами условно «SCS» («*Silene cretacea* Saratov»). Количество адвентивных микропобегов/эксплант при этом было на уровне  $10.51 \pm 1.09$  шт. а количество оводнённых микропобегов – ниже 4%.

Замена минерального состава на MS, B5 [21], QL [22] или Anderson [23] приводила к нарушению пигментации (хлороз или появление антоципановой окраски) регенерировавших микропобегов, недоразвитию листьев, образованию бурого каллуса, а также к общему снижению побегообразования.

Главным недостатком культивирования *S. cretacea* во всех рассмотренных вариантах являлось неизбежное нарастание каллуса в основании побегов. В целях снижения этого эффекта нами был выполнен эксперимент по подбору углеводов. Замена сахарозы на глюкозу или фруктозу привела к практически полному отсутствию каллуса, однако процент оводнённых адвентивных побегов в этих вариантах составил 87.78 и 44.36% соответственно. В последующих субкультивированиях такие побеги отличались пониженной жизнеспособностью и склонностью к некротическим явлениям.

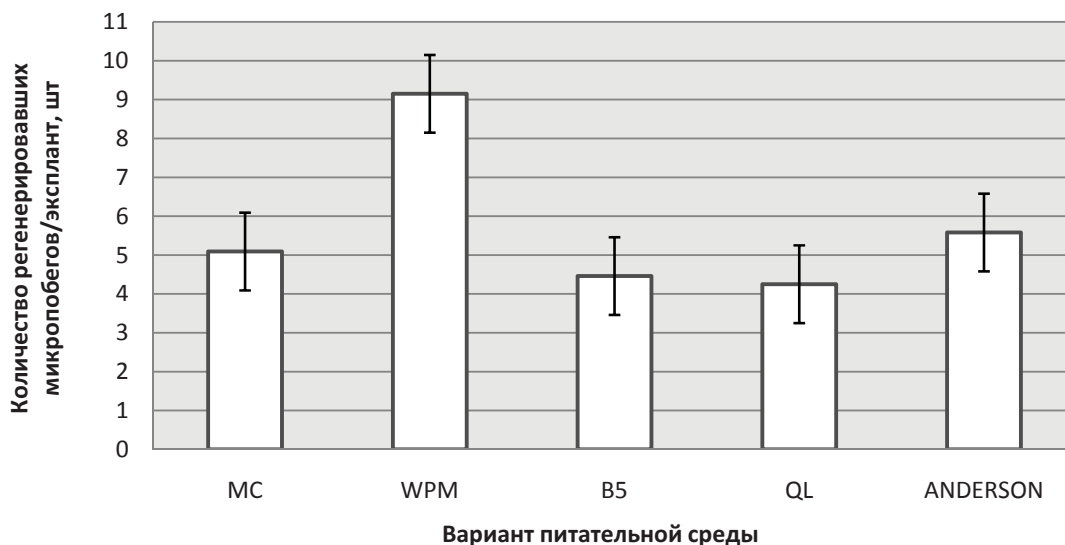


Рис. 2. Влияние минерального состава питательных сред на регенерацию микропобегов *S. cretacea* (через 21 сутки черенкования в условиях *in vitro*)

Снижение концентрации сахарозы до 20 г/л способствовало вытягиванию микропобегов, средняя длина которых составила  $2.88 \pm 0.45$  см, по сравнению с исходным вариантом концентрации сахарозы 30 г/л ( $1.52 \pm 0.19$  см), а также уменьшению количества каллуса. Дальнейшее уменьшение концентрации сахарозы до 10 г/л привело к нарушению пигментации растительного материала и оводнению около 20% микропобегов.

Полное отсутствие каллуса без видимых дефектов растительного материала наблюдали лишь в контрольных образцах, при культивировании *S. cretacea* на питательной среде MS либо WPM без регуляторов роста. В этом варианте микроразмножение практически отсутствовало,

но, в отличие от всех остальных вариантов, происходило спонтанное образование корней через 30–60 суток экспонирования.

#### *Лапчатка волжская*

Для *P. vulgarica* максимальный коэффициент размножения отмечен на среде, содержащей БАП, и составил  $10.30 \pm 2.50$  микропобегов на эксплант. Использование кинетина, зеатина и 2-ip не дало желаемого результата (табл. 2). На питательной среде с добавлением зеатина размножение практически отсутствовало ( $1.00 \pm 0.17$  адвентивных побегов на эксплант), но в отличие от вариантов с БАП, кинетином и 2-ip наблюдали формирование плотной розетки, максимальную длину и развитие листьев.

Таблица 2

Регенерационный потенциал эксплантов *P. vulgarica*, культивируемых *in vitro* на питательных средах с различными цитокининами (через 21 сутки культивирования)

Регулятор роста, мг/л	Количество адвентивных микропобегов/эксплант, шт.
Контроль	$0.75 \pm 0.33$
БАП 0,5	$10.30 \pm 2.50$
Кинетин 0,5	$1.00 \pm 0.12$
Зеатин 0,5	$1.00 \pm 0.17$
2-ip 0,5	$1.50 \pm 0.56$

Исходя из полученных данных, в следующем эксперименте использовали питательную среду с добавлением зеатина (0.5 мг/л) в сочетании с различными концентрациями БАП (0.10; 0.25;

0.50; 1.00 мг/л). В исследуемом диапазоне интенсивность микроразмножения была практически одинаковой и составляла  $9.81 \pm 0.82$  регенерировавших микропобегов на эксплант через



35 суток культивирования, однако, на питательной среде с БАП 0.50 мг/л и 1.00 мг/л наблюдалось оводнение от 50 до 100% растительного материала. Оптимальным оказался вариант с БАП 0.10–0.25 мг/л. При этом коэффициент размножения не имел статистически достоверных различий по сравнению с другими вариантами, но сами мериклоны легко отделялись от общей розетки и морфологически были более близки к нативным растениям. Количество оводненных микропобегов в данном варианте не превысило 10% на 21-е сут, и 20% – на 35-е сутки культивирования. В контрольном образце, лишённом регуляторов роста, микроразмножение отсутствовало, но в отличие от всех остальных вариантов был отмечен ризогенез.

Разработанное нами соотношение может быть применимо для быстрого получения (3–

4 пассажа) большого количества регенерантов, которые, минуя стадию дорастивания, могут сразу переходить к этапу корнеобразования. Однако было установлено, что длительное культивирование (более 4–5 пассажей) на питательной среде с БАП и зеатином приводит к образованию генеративных структур (рис. 3, а), осложняющих дальнейшую работу с культурой. Применение сочетания фитогормонов SCS, подобранного нами для смолёвки, полностью решило эту проблему (см. рис. 3, б). Коэффициент размножения составил  $9.42 \pm 3.19$  адвентивных побегов на эксплант, при этом анализ морфометрических показателей (количество розеток, количество листьев, длина и ширина листа, диаметр экспланта) не выявил статистически достоверных различий.

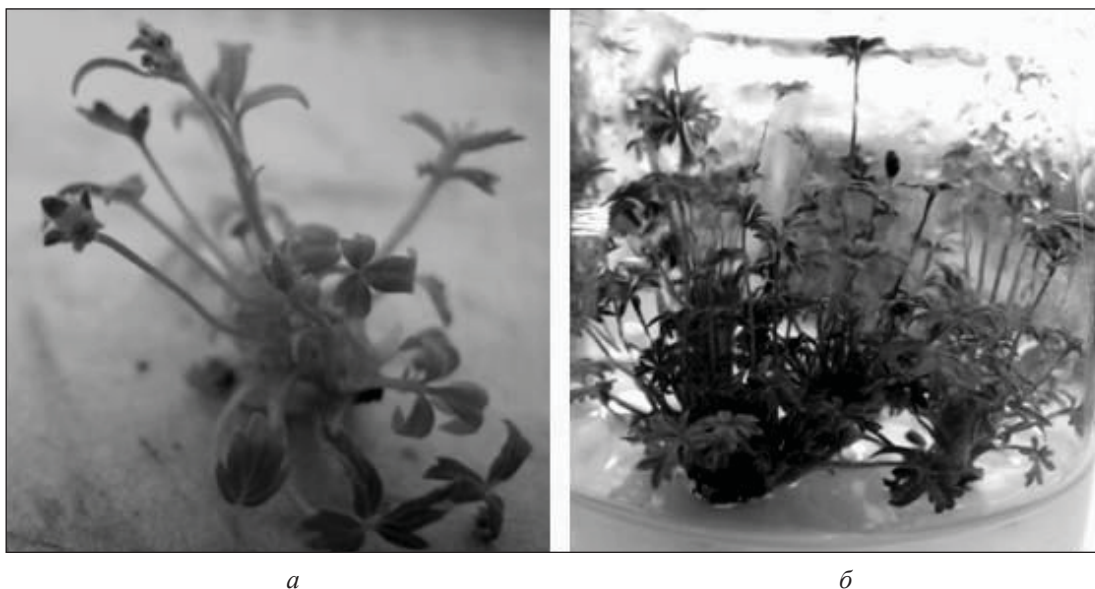


Рис. 3. Состояние эксплантов *P. vulgaris* на питательной среде MS с БАП 0.25 мг/л + зеатин 0.50 мг/л (а) и SCS (б) через 4 пассажа (длительность одного пассажа – 21 сутки)

В ходе подбора оптимальных условий культивирования *P. vulgaris* были апробированы различные минеральные составы питательной среды: MS, WPM, B5, QL и Anderson. В опытном варианте каждый состав был дополнен зеатином и БАП в рекомендованных концентрациях, контроль – каждый состав без регуляторов роста. Наихудший результат был отмечен на QL и Anderson: как в опыте, так и в контроле наблюдали хлороз, недоразвитие листьев и общее угнетение морфогенеза. Наилучшие результаты были получены при культивировании на средах MS, WPM и B5. В контрольных вариантах мы не выявили статистически достоверных отличий в морфометрических параметрах исследуемого

объекта. На питательных средах, дополненных фитогормонами, различий по интенсивности побегообразования также выявлено не было, что свидетельствует о возможности использования каждого из трёх вариантов для регенерации микропобегов. Однако создание генетического банка предполагает минимальный уход за депонированной культурой. Этому условию более всего отвечает минеральный состав B5, так как в данном варианте растительный материал имел более компактную форму и несколько сниженные по сравнению с MS и WPM морфометрические показатели (рис. 4), тогда как морфогенетический потенциал оставался таким же ( $9.73 \pm 3.23$  адвентивных микропобегов на эксплант).

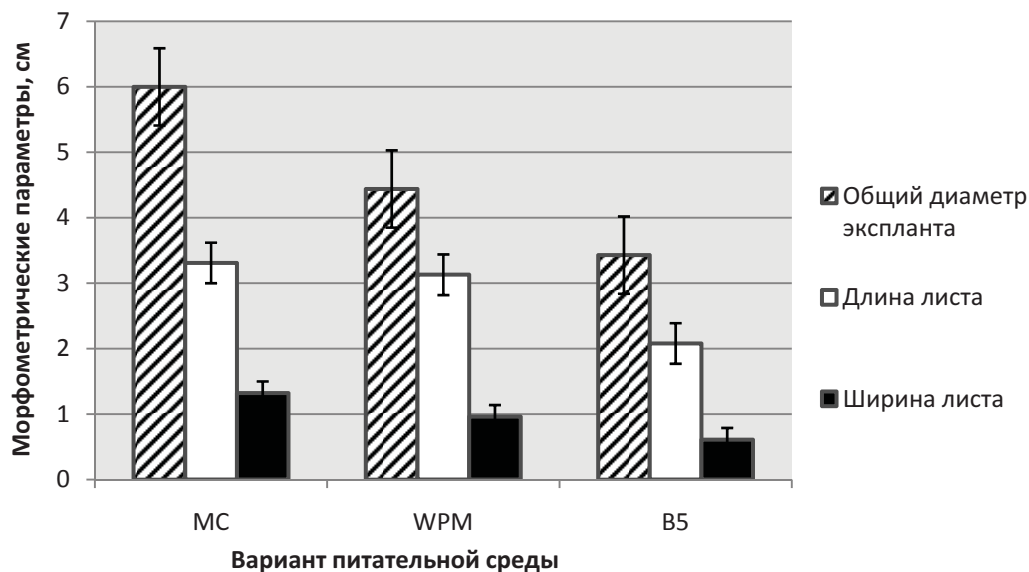


Рис. 4. Влияние минерального состава питательной среды на некоторые морфометрические параметры *P. volgarica* (30-е сутки культивирования)

#### Другие представители меловой флоры

Разработанное нами соотношение фитогормонов SCS на базе минерального состава WPM было применено к другим кальцефильным видам растений, культивируемым в настоящий момент в лаборатории микроразмножения растений УНЦ «Ботанический сад» СГУ. К ним относятся: *Silene hellmannii*, *Centaurea ruthenica*, *Hyssopus cretaceus* и *Scrophularia sareptana* (рис. 5).



Рис. 5. Массовая регенерация микропобегов *Scrophularia sareptana* на питательной среде SCS с минеральной основой WPM

Предварительные результаты показывают, что все эти культуры хорошо развиваются на апробированном варианте (1 : 5 – 1 : 30 адвентивных микропобегов на эксплант, в зависимости от вида), в то время как культивирование на питательной среде, дополненной одним лишь БАП (0.2–0.5 мг/л) в качестве источника цитокининов, приводит к постепенному угнетению морфогенеза вплоть до полного выпадения культуры.

#### Выводы

Получены стерильные, стабильно растущие культуры *P. volgarica* и *S. cretacea*. Разработан оптимальный баланс фитогормонов, получивший обозначение «SCS» («*Silene cretacea* Saratov»), для прямой регенерации микропобегов исследуемых объектов. Установлено, что базовыми питательными средами для клонального микроразмножения *P. volgarica* являются MS, WPM и B5, для *S. cretacea* – только WPM. Для дальнейшей работы по сохранению рассмотренных объектов в условиях замедленного роста могут быть рекомендованы безгормональные питательные среды с минеральной основой MS или WPM – для *S. cretacea* и B5 – для *P. volgarica*.

#### Список литературы

1. Андропова Е. В. Современные методы исследования и сохранения редких и исчезающих видов орхидных России // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира : материалы



- II Всерос. науч.-практ. конф., Волгоград, 19–21 августа 2008 г. Белгород : Изд-во БелГУ, 2008. С. 24–28.
2. Белокурова В. Б. Методы биотехнологии для сохранения исчезающих видов растений в коллекциях *in vitro* // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира : материалы II Всерос. науч.-практ. конф., Волгоград, 19–21 августа 2008 г. Белгород : Изд-во БелГУ, 2008. С. 34–38.
  3. Benford G. An ex situ «Library of Life» strategy // Protection of global biodiversity: converting strategies / eds. L. D. Guruswamy, J. A. Mc Neely. Durham ; L. : Duke Univ. Press, 1998. P. 87–97.
  4. Hammer K., Arrowsmith N., Gladis T. Agrobiodiversity with emphasis on plant genetic resources // Naturwissenschaften. Springer Verlag, 2003. Vol. 90, № 6. P. 241–250.
  5. Kuckuck H., Kobabe G., Wenzel G. Fundamentals of plant breeding (with cooperation of D. Boringer, W. Hondelmann, V. Story, T. Tatlioglu). Springer Verlag, 1991. 236 p.
  6. Молканова О. И., Коротков О. И., Горбунов Ю. Н. Методология сохранения коллекций редких и ценных растений в генетических банках *in vitro* // Биотехнология как инструмент сохранения биоразнообразия растительного мира : материалы II Всерос. науч.-практ. конф., Волгоград, 19–21 августа 2008 г. Белгород : Изд-во БелГУ, 2008. С. 118–122.
  7. Красная книга Саратовской области : Грибы. Лишайники. Растения. Животные / Комитет охраны окружающей среды и природных ресурсов Саратов. обл. Саратов : Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. 528 с.
  8. Митрофанова И. В. Соматический эмбриогенез и органогенез как основа биотехнологии получения и сохранения многолетних садовых культур. Киев : Аграрная наука, 2011. 344 с.
  9. Engelmann F. *In vitro* conservation methods // Biotechnology and plant genetic resources: Conservation and use / eds. B. V. Ford-Lloyd, J. H. Newbury, J. A. Carrow. UK : Wallingford : CABI Publishing, 1997. Vol. 3, № 1. P. 119–162.
  10. 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. 170–172.
  11. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / гл. ред. Ю. П. Труннев. М. : Тов. науч. изданий КМК, 2008. 855 с.
  12. Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats. Bern, 1979. App. 1.
  13. Серова Л. А., Березуцкий М. А. Растения национального парка «Хвалынский» (Конспект флоры). Саратов : Науч. кн., 2008. 194 с.
  14. Горбунов Ю. Н., Дзыбов Д. С., Кузьмин З. Е., Смирнов И. А. Методические рекомендации по реинтродукции редких и исчезающих видов растений (для ботанических садов). Тула : Гриф и К, 2008. 56 с.
  15. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15, № 13. P. 473–497.
  16. Митрофанова О. В., Михайлов А. П., Чехов А. В. Биотехнологические аспекты освождения от вирусов и клонального микроразмножения некоторых экономически важных многолетних культур // Биотехнологические исследования садовых и других ценных многолетних культур : сб. науч. тр. Ялта : Никит. бот. сад, 1997. Т. 119. С. 7–34.
  17. Катаева Н. В., Бутенко Р. Г. Клональное микро-размножение растений. М. : Наука, 1983. 232 с.
  18. Катаева М. В. Введение в культуру *in vitro* редких лекарственных растений *Potentilla* L. // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры : материалы Междунар. конф., посвящ. 80-летию Центр. бот. сада Нац. академии наук Беларуси. Минск, 19–22 июня 2012 г. : в 2 ч. Минск, 2012. Ч. 2. С. 398–401.
  19. Жолобова О. О. Сохранение редких и исчезающих видов растений в культуре *in vitro* и оценка уровня их внутривидового полиморфизма : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Белгород : Изд-во БелГУ, 2012. 23 с.
  20. Loud G., McCown B. Commercially-feasible micro-propagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture // *Proc. Intern. Plant Prop. Soc.* 1980. Vol. 30. P. 420–427.
  21. Gamborg O. L., Eveleigh D. E. Culture methods and detection of glucanases in cultures of wheat and barley // *Can. J. Biochem.* 1968. Vol. 46, № 5. P. 417–421.
  22. Quoirin M., Lepoivre P. Improved medium for *in vitro* culture of *Prunus* sp. // *Acta Hort.* 1977. Vol. 78. P. 437–442.
  23. Anderson W. S. Mass propagation by tissue culture : principles and techniques // On nursery production of fruit plants through tissue culture – applications and feasibility : *proc. of conf. Maryland*, 1980. P. 1–10.



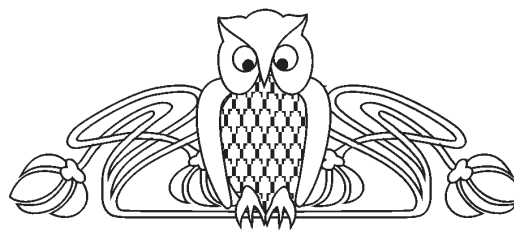


УДК 595.796

## ОСОБЕННОСТИ СУТОЧНОЙ АКТИВНОСТИ МУРАВЬЕВ (HYMENOPTERA, FORMICIDAE) В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Н. С. Павлова, В. В. Аникин, М. Ю. Воронин

Саратовский государственный университет  
E-mail: Nadya1818@yandex.ru



Активность муравьев, как и большинства видов беспозвоночных, зависит от температуры окружающей среды. Сведения о зависимости интенсивности фуражировки муравьев конкретного местообитания от температуры представляют несомненный интерес для лесного хозяйства. Проведено наблюдение за активностью трех видов муравьев. Пахучий муравей-древоточец (*Lasius fuliginosus*) и рыжий лесной муравей (*Formica rufa*) – виды с дневным типом активности, а луговой муравей (*F. pratensis*) – с утренне-вечерним типом.

**Ключевые слова:** муравьи, суточная активность, температура окружающей среды.

### Features Daily Activity Ants (Hymenoptera, Formicidae) in Saratov Region

N. S. Pavlova, V. V. Anikin, M. Yu. Voronin

Activity ants, like most invertebrate species depends on the ambient temperature. For information about the dependence of the intensity of foraging ants on the temperature of a particular habitat are of great interest to forestry. Conducted surveillance of the activity of three species of ants. *Lasius fuliginosus* and *Formica rufa* species with daily activity type, *F. pratensis* with a morning-evening type.

**Key words:** ants, daily activity, the temperature of the environment.

Цель нашего исследования – изучение особенностей суточной активности муравьев видов *Formica rufa* Linnaeus, 1761, *F. pratensis* Retzius, 1783 и *Lasius fuliginosus* Latreille, 1798.

Луговой муравей (*F. pratensis*) – транспалеарктический вид в лесостепной зоне, обитает преимущественно на остепненных участках и в редких молодых лиственных лесах [1]. В питании лугового муравья преобладают мертвые насекомые и падь тлей, иногда поедает и живых насекомых. На деревьях, которые они посещают из-за тлей, *F. pratensis* охотятся на гусениц листовенничной минирующей моли [2].

Пахучий муравей-древоточец (*L. fuliginosus*) – транспалеарктический вид, распространен от Европы до Восточной Сибири. В питании преобладают мелкие насекомые и их личинки, сахаристые экскременты тлей, семена копытня и фиалки [2].

Рыжий лесной муравей (*F. rufa*) – западно-палеарктический вид, обитает в хвойных, смешанных и лиственных лесах в условиях Средней полосы России. У рабочих муравьев длина тела достигает 4–9 мм, голова и грудь красновато-бурые, брюшко черноватое, блестящее [1]. Муравьи очень сильны и успешно доставляют в муравейник не только мелких насекомых, но и превосходящих их по массе. Если добыча очень велика, то они транспортируют ее коллективно. Ежедневно в гнездо доставляется несколько тысяч насекомых. Подсчитано, что муравьи среднего муравейника защищают от вредных насекомых 0.25 га леса, а крупного – до 1 га [2].

### Материалы и методы исследования

Исследования муравьев видов *F. pratensis* и *L. fuliginosus* проводили в светлое время суток 7–8.07.2011 г. и 27.06.–5.07.2012 г. в пойме реки Медведицы Лысогорского района Саратовской области; вида *F. rufa* – 30.06. – 1.07.2013 г. в окрестностях Хвалынской научно-исследовательской базы СГУ им. Н. Г. Чернышевского. Для сбора муравьев использовали ручной метод [3]. Гнезда муравьев описывали по следующим критериям: тип гнезда; местоположение, дерево-резидент; форма и материал купола; внешние размеры муравейника: диаметр, высота купола. Для оценки общей активности семьи в течение пяти минут регистрировали муравьев, пересекающих разграничитель (нитку), учитывали особей, выходящих и входящих в гнездо [4]. Измерение температуры приземного слоя воздуха производили 1 раз в час бытовым термометром. Наблюдения за активностью муравьев проводились в течение 42 ч 15 мин. Всего было учтено 49139 особей.

### Результаты и их обсуждение

Исследованное нами гнездо *L. fuliginosus* расположено в пойменном лесу (дерево-резидент – дуб черешчатый) в древесине мертвого дуба. От гнезда отходит три тропы, одна приводит к дереву, другие две рассеиваются. Гнездо



*F. pratensis* расположено на лугу. Материал купола – почва и растительные остатки. Форма купола сферическая  $d = 52$  см,  $h = 30$  см. От гнезда отходит три дороги, одна из которых раздваивается. Дороги заметны на протяжении 1–2 м, а дальше рассеиваются.

Дни наблюдения по погодным условиям можно разделить на три группы: теплые со средней температурой 27 °С (макс. – 35, мин. – 17), с переменной облачностью (27 июня и 29 июня – 3 июля 2012 г.); 28 июня 2012 г. – дождливый день со средней температурой 20 °С (макс. – 21, мин. – 19); 7 и 8 июля 2011 г. и 5 июля 2012 г. – жаркий ясный день со средней температурой 31 °С (макс. – 39, мин. – 20). Особенности активности по этим группам будем рассматривать отдельно.

В активности *L. fuliginosus* в теплые дни и жаркий день статистически значимых различий по критерию Вилкоксона для выборок с зависимыми переменными не обнаружено. У

*L. fuliginosus* наблюдается массовый утренний (5 ч) выход при температуре воздуха 20 °С. Количество учтенных муравьев в 3.4 раза больше, чем среднее в течение дня и в 7.9 раз больше, чем минимальное за день. В течение дня наблюдается колебание активности (от 20 до 9 учтенных особей). Максимум активности приходится на первую половину дня (до 14 ч). После 15 ч количество муравьев, возвращающихся в муравейник, начинает преобладать над количеством особей, выходящих из него. Резкий спад активности наблюдается в районе 20 ч, в это время количество возвращающихся особей превышает количество уходящих из гнезда в 1.5 раза (рис. 1). Среднее количество особей, поднимающихся и спускающихся с дерева, в 3 раза меньше, чем количество особей, выходящих и входящих в гнездо. Между активностью в теплые и дождливый дни обнаружено статистически значимое различие, так же как и в жаркий и дождливый дни (4.525,  $p = 0.000$ ; 3.833,  $p = 0.000$ ).

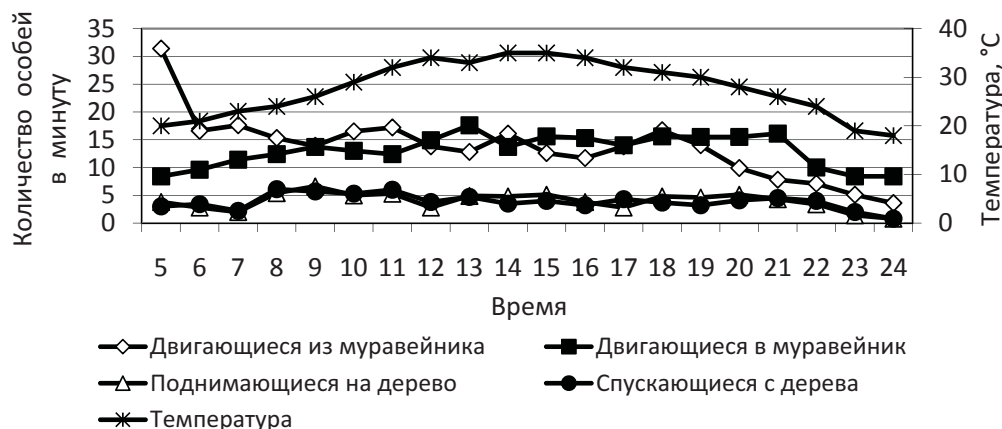


Рис. 1. График активности муравьев *L. fuliginosus* за время наблюдения

В теплые дни у *F. pratensis* можно выделить два пика активности: утренний с 9 до 11 ч и вечерний – с 17 до 21 ч. На часы с 11 до 16 приходятся максимальные температуры приземного слоя воздуха (28–30 °С). После 21 ч при температуре 21 °С активность резко падает (рис. 2, а). В жаркий день пики активности выражены сильнее. С 14 до 16 ч активность прекращается, температура приземного слоя воздуха достигает в это время 38–39 °С (см. рис. 2, б). Статистически значимые различия обнаружены между активностью *F. pratensis* в теплые и жаркий дни (3.14,  $p = 0.017$ ); теплые и дождливый дни (4.806,  $p = 0.000$ ). Статистически значимых различий между активностью в жаркий и дождливый дни не отмечено.

Среднее количество особей обоих видов муравьев, учтенных в дождливый день, в 1.6 раза меньше, чем среднее количество учтенных особей в теплые ясные дни. Но активность наблюдается в течение всего дня.

Между активностью *L. fuliginosus* и *F. pratensis* за время наблюдений обнаружено статистически значимое различие по критерию Вилкоксона для выборок с зависимыми переменными (5.223,  $p = 0.000$ ), что можно объяснить различными условиями местообитания.

Важно отметить, что у всех видов с утренне-вечерним ритмом активности дневной перерыв фуражировки является вынужденным и обуславливается только высокой температурой.

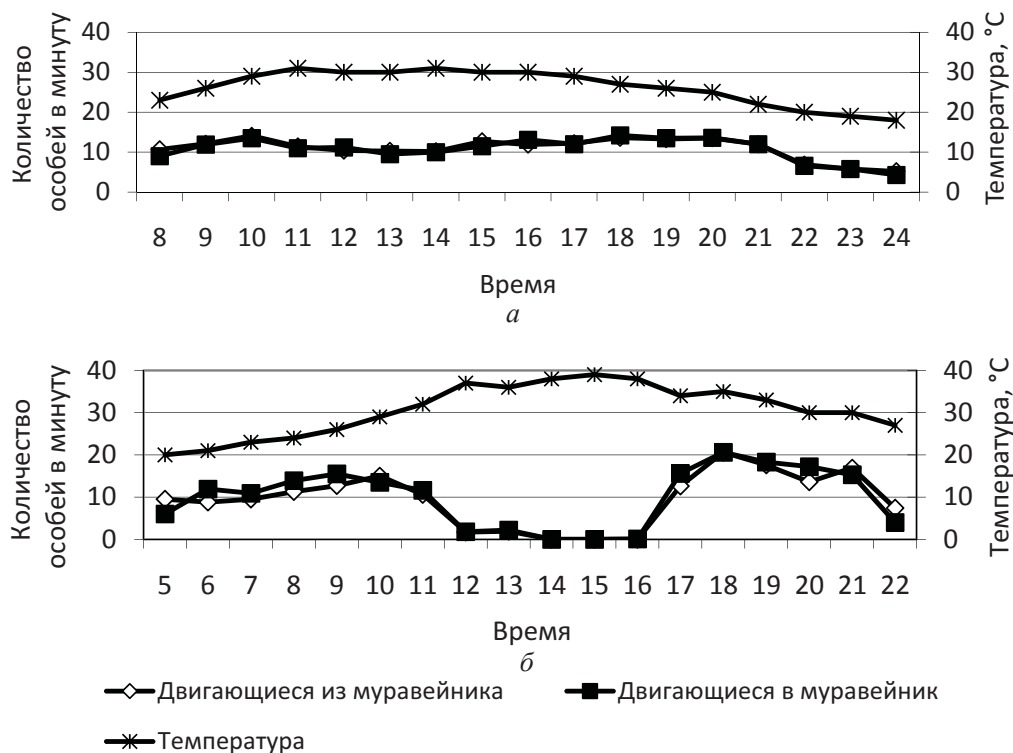


Рис. 2. График активности муравьев *F. pratensis*: а – в теплые дни; б – в жаркий день

Температура на поверхности почвы определяет и длительность дневного перерыва. Поскольку перерыв фуражировочной активности в середине дня является вынужденным, утренне-вечерний тип активности в принципе не отличается от дневного типа. Все различия сводятся к различиям в устойчивости к высокой температуре и низкой влажности [5].

Температурные пределы фуражировочной активности не являются абсолютным свойством вида и могут в широких пределах (приблизительно 3–5°C) варьировать у особей одной и той же семьи в зависимости от привыкания к высокой (или низкой) температуре [5]. Предпочитаемая температура зависит от той температуры, при которой муравьи выращивались. Так, особи *F. rufa*, выращенные при 3–4 °С, предпочитают температуру 23–24 °С, а выращенные при 25–27 °С – температуру 31–32 °С [1].

Также примером муравьев с дневным типом активности является *F. rufa* в Хвалынском районе. Исследованное нами гнездо расположено в лесу (дерево-резидент – клен платановидный). Материал купола – почва и растительные остатки. Колония состоит из двух гнезд, расположенных рядом. Купола сферической формы ( $d = 120\text{см}$ ,  $h = 65\text{см}$ ;  $d = 90\text{см}$ ,  $h = 40\text{см}$ ). Можно выделить семь направлений движения муравьев

от муравейника, тропы просматриваются на протяжении 10–12 м, а дальше рассеиваются. Наблюдается достаточно ровная активность в течение всего дня. Но можно выделить максимум активности в первой половине дня (до 14 ч); среднее количество учтенных двигающихся из муравейника особей в этот период времени в 1.5 раз больше, чем количество особей, учтенных после 14 ч, и в 2.4 раза больше, чем минимальное за день. После 19 ч резко возрастает количество особей, возвращающихся в муравейник, в 3 раза больше, чем количество выходящих из него. После 21 ч при температуре 22°C активность падает; количество учтенных особей в 2.7 раз меньше, чем среднее за день, и в 3.6 раз меньше, чем максимальное за день (рис. 3).

Температура приземного слоя воздуха в местообитаниях муравьев в светлое время суток колеблется от 17 до 39 °С. У *L. fuliginosus* и *F. rufa* наблюдается максимум активности в первой половине дня (до 14 ч); у *F. pratensis* – два пика активности: утренний (с 8 до 11 ч) и вечерний (с 17 до 21 ч). В дождливые дни активность муравьев не прекращается, но она в 1.6 раз меньше, чем в ясные дни. В жаркий день активность *L. fuliginosus* не отличается от активности в теплые дни; у *F. pratensis* в

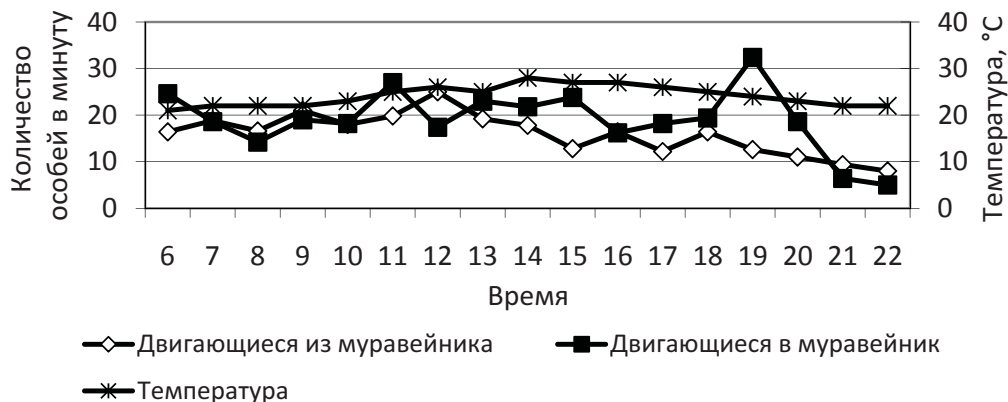


Рис. 3. График активности муравьев *F. rufa*

жаркий день наблюдается перерыв активности в середине дня, обусловленный высокой температурой приземного слоя воздуха.

#### Список литературы

1. Длусский Г. М. Муравьи рода Формика. М. : Наука, 1967. 236 с.
2. Дунаев Е. А. Муравьи Подмосковья : методы экологических исследований. М. : МосгорСЮН, 1997. 96 с.
3. Гилев А. В., Зрянин В. А., Федосеева Е. Б. Методы сбора, хранения и морфометрии муравьев // Муравьи и защита леса : материалы XIII Всерос. мирмекол. симп. Н. Новгород, 26–30 августа 2009 г. Н. Новгород : Изд-во Нижегород. госун-та, 2009. С. 263–271.
4. Захаров А. А., Горюнов Д. Н. Общие методы полевых экологических исследований // Муравьи и защита леса : материалы XIII Всерос. мирмекол. симп. Н. Новгород, 26–30 августа 2009 г. Н. Новгород : Изд-во Нижегород. госун-та, 2009. С. 247–256.
5. Длусский Г. М. Муравьи пустынь. М. : Наука, 1981. 230 с.

УДК 579.63

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИННОВАЦИОННЫХ ФИЛЬТРУЮЩИХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД

Н. В. Веденева, О. В. Нечаева<sup>1</sup>

Саратовский государственный технический университет  
<sup>1</sup>Саратовский государственный медицинский университет  
 E-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru

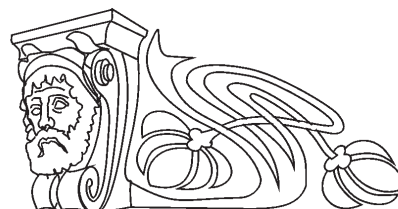
В работе исследована фильтрующая способность наноструктурированных материалов, применяемых при создании фильтрующих систем нового поколения. Целью явилась проверка сорбционной и дезинфицирующей способностей фильтрующих компонентов. Качество дезинфекции определялось уровнем задержки микроорганизмов в фильтрующих элементах. В качестве экспериментальной модели был выбран штамм *E. coli* 113-13 в концентрации рабочей 1 × 10<sup>3</sup> м.к./мл. Установлена эффективность применения биополимера по сравнению с распространенными дезинфектантами. Также установлено, что дезинфицирующая способность фильтрующей системы зависит от биополимера субстрата нанесения. Проведено исследование сорбционной активности наноструктурированных природных материалов на примере тяжелых металлов.

**Ключевые слова:** водоподготовка, обеззараживание воды, бентонитовые гранулы, санитарно-показательные микроорганизмы, полиазилидинаммоний ионгидрат.

#### The Use of Innovative Filter Materials for Decontamination of Surface Water

N. V. Vedeneva, O. V. Nechaeva

The filtration capacity of nanostructured materials used for creation of new generation filter systems was studied. The goal of our study was testing adsorbing and disinfecting capabilities of filtering components. Quality of filtration was determined by the level of microorganisms trapped in the filter. The strain of *E. coli* 113-13 at the concentration of





$10^3$  microbial colonies per ml was chosen as the experimental model. Efficiency of biopolymer application in comparison with common disinfectant was established. Also, we found that the disinfecting capacity of filter system depends on a biopolymer substrate coating. The research of the sorption activity of natural nanostructured materials such as heavy metals was studied.

**Key words:** water treatment, water disinfection, bentonite granules, coliform bacteria, indicator bacteria, poly azolidine ammonium hydrate ion.

Проблема качества питьевой воды остается актуальной на сегодняшний день. Специфика проблемы обеспечения населения России питьевой водой заключается не в дефиците водных ресурсов, а в их загрязнении и деградации. Эффективность ее решения не только непосредственно влияет на состояние здоровья граждан, но и определяет уровень экологической безопасности в ряде регионов страны, обуславливает возникновение в некоторых из них социальной напряженности, превращается в важнейший фактор национальной безопасности страны.

Среди множества методов водоподготовки наиболее распространенными являются фильтрование через сорбционные материалы и обработка сильными окислителями (хлор, хлорсодержащие реагенты, озон), однако применение данных способов (в случае обеззараживания) часто является опасным для здоровья населения и окружающей среды [1].

При использовании хлора в процессе подготовки питьевой воды велика вероятность образования большого количества канцерогенных и мутагенных веществ опасных для здоровья человека [2]. Установлено, что при хлорировании часто образуются вторичные хлорорганические соединения, которые при попадании в водные объекты долго сохраняют свою структуру и могут значительно превышать предельно допустимые концентрации [3]. Данные способы обеззараживания также требуют обеспечения повышенных мер безопасности при перевозках и хранении, так как его высокая реакционная способность и коррозионная активность водных растворов хлора и подобных окислителей служат дополнительным источником экологической опасности в жилой зоне городов [4]. Поэтому поиск перспективных химических соединений, которые могут быть использованы для дезинфекции воды одновременно с сорбционными материалами, эффективно очищающими от химических загрязнителей, является актуальным и востребованным в практике водоподготовки и водоочистки.

В ходе работы изучали сорбционные свойства компонентов, используемых в современной водоочистке, а также антибактериальную активность инновационных наноматериалов.

В качестве основного сорбционного материала рассматривали бентонитовые гранулы, получаемые путем отжига наноструктурированного бентонита. Технология отжига разработана специалистами ООО НПП «Лисскон» (г. Саратов) и защищена патентами РФ [5, 6]. Бентонит – природный глинистый минерал, имеющий свойство разбухать при гидратации в 14–16 раз, обладает своеобразной кристаллической структурой с наличием на поверхности бентонита ионообменных катионов. Отрицательный заряд на поверхности молекулы в избытке, поэтому он компенсирует обмен катионов в межслоевом пространстве, тем самым обеспечивая высокую гидрофильность бентонита [7].

В результате отжига мелкодисперсного бентонита образуются гранулы с размером 0,5–1 мм с очень высокой удельной площадью поверхности (около  $40 \text{ м}^2$  на 1 г), что обуславливает ее высокие адсорбционные свойства. Гранула способна как к катионному, так и анионному обмену, но преобладает катионный обмен.

На физические свойства гранул значительно влияют температура и время отжига. При температуре  $540 \text{ }^\circ\text{C}$  добавлением при замешивании 40% раствора глицерина, в соотношении 6 : 1, получаются гранулы с очень высокой удельной поверхностью:  $37 \text{ м}^2/\text{г}$  и общим объемом пор  $0,092 \text{ см}^3/\text{г}$ . Данные гранулы обладают очень хорошими сорбционными свойствами, но не способны к длительному сохранению своей структуры. При температуре обжига  $800 \text{ }^\circ\text{C}$  структура получаемого гранулята обладает высокой механической прочностью, однако удельная поверхность значительно снижается – около  $12 \text{ м}^2/\text{г}$ , общий объем пор составляет  $0,031 \text{ см}^3/\text{г}$ . В ходе проведенного исследования проверялась не только сорбционная активность гранул, но и возможность их использования в качестве основы для нанесения наноструктурированного полимера, обладающего антибактериальными свойствами.

В качестве инновационного бактерицидного средства использовали полиазолидинаммоний ионгидрат. Это полиэлектролит с высокой плотностью заряда. В противовес полимерной цепочке, имеющей положительный заряд, ионгидраты имеют заряд противоположного знака и в обычных условиях обеспечивают электронейтральность молекулы. При растворении в



воде и нанесении на поверхность какого-либо материала глобулы полимера разворачиваются, и часть противоионов высвобождается [8]. Чем меньше концентрация полимера, тем больше разворачиваются глобулярные цепи. Так как бактерии имеют отрицательный заряд мембраны, а полимер – положительный, то образуется сильная электростатическая связь между полимером и мембраной бактерии. Вторым действующим фактором – это ионгидраты, которые сами по себе обладают активностью и эффективны в борьбе с микрофлорой. Ранее проведенными исследованиями установлена его экологическая безопасность: биополимер относится к IV классу токсичности и является малоопасным соединением.

На первом этапе нашей работы были проведены сравнительные исследования биологической активности водных растворов стабилизированного диоксида хлора и полиазолидинаммоний ионгидрата.

В качестве экспериментальной модели мы использовали стандартный штамм грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* 113-13. Для определения биологической активности соединений использовали метод серийных разведений. Препараты разводили в стерильной дистиллированной воде до получения рабочей концентрации 1000 мкг/мл; затем готовили двукратные разведения в мясо-пептонном бульоне до концентрации 15 мкг/мл. Взвесь суточной культуры *E.coli* 113-13 добавляли в концентрации  $2 \times 10^5$  м.кл./мл в пробирки с исследуемыми препаратами и инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 24 часов.

Далее из каждой пробирки производили высев по 0,1 мл бульонной культуры на чашки Петри с мясо-пептонным агаром (МПА) методом газона. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 24 часов, после чего подсчитывали количество выросших колоний (КОЕ). Полученные результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Влияние исследуемых веществ на выживаемость *E.coli* 113-13

Показатель	Количество КОЕ							
	1000	500	250	120	60	30	15	К
Концентрация веществ, мг/л	1000	500	250	120	60	30	15	К
Стабилизированный диоксид хлора	–	–	–	–	СР	СР	СР	СР
Полиазолидин-аммоний ионгидрат	–	–	–	–	–	–	15±4	СР

Примечание. «–» – отсутствие роста, «СР» – сплошной рост.

Из табл. 1 видно, что биополимер оказался эффективным при более низких концентрациях, чем раствор диоксида хлора. Минимальная действующая концентрация диоксида хлора составила, в нашем случае 120 мг/л (согласно данным производителя 100 мг/л). У полиазолидинаммоний ионгидрата эта величина составила 30 мг/л, а более низкие концентрации препарата оказывали на исследуемый микроорганизм бактерицидное действие. Хотелось бы еще отметить, что биополимер относится к IV классу токсичности и является малоопасным соединением, в отличие от популярного диоксида хлора, который относится к III классу токсичности и считается умеренно опасным.

Далее нами были проведены исследования по изучению дезинфицирующей способности полиазолидинаммония ионгидрата в зависимости от субстрата для нанесения. В качестве основы для нанесения полимера были выбраны кокосовый активированный уголь Calgon (основной компонент фильтрующих загрузок) и модификации отожженных бентонитовых гранул с разной

температурой обжига (при 540 °С и 800 °С). Сорбенты в объеме 0,1 дм<sup>3</sup> заливали 1% раствором полимера и выдерживали в течение 24 часов, после чего помещали их в химическую колонку. Для проверки бактерицидной способности модифицированных сорбентов фильтровали взвесь суточной культуры *E.coli* 113-13 в концентрации  $5 \times 10^4$  м.кл./мл. Профильтрованную взвесь высеивали на МПА в объеме 0,1 мл методом газона. После инкубации подсчитывали количество выросших колоний (КОЕ). Результаты эксперимента представлены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние площади поверхности субстрата на бактерицидные свойства полимера

Субстрат	Фильтрат, КОЕ/мл ( $M \pm m$ )
Контроль	$4,8 \pm 0,4 \times 10^4$
Активированный уголь	$4,4 \pm 0,34 \times 10^4$
Бентонитовые гранулы (540 °С)	$8,8 \pm 0,8 \times 10^{3*}$
Бентонитовые гранулы (800 °С)	$3 \pm 1,2 \times 10^*$

Примечание. \* – наличие достоверности при уровне значимости  $p < 0,05$  по отношению к контролю.



Установлено, что дезинфицирующая способность фильтрующей системы зависит от субстрата, на который наносится полимер. Так, наиболее выраженный антибактериальный эффект наблюдался при нанесении полимера на бентонитовые гранулы, отожженные при 800 °С (99,9% дезинфекция). Хороший бактерицидный эффект связан со структурой данных гранул: твердая поверхность с небольшим количеством пор дала возможность полимеру закрепиться на поверхности гранул и развернуть свою цепочку. При пропускании взвеси бактерий через бентонитовые гранулы, полученные путем отжига при температуре 540 °С, наблюдалось снижение количества микроорганизмов приблизительно в 5 раза по сравнению с контролем. Также нам удалось установить, что поверхность активированного угля марки Calgon не может выступать в качестве основы для нанесения оболочки полимера, так как у угля очень развитая удельная поверхность – около 900 м<sup>2</sup>/г, полимер проникает внутрь структуры сорбента и не может закрепиться с поверхности носителя. Этим и объясняется незначительный дезинфицирующий эффект активированного угля, обработанного полимером.

Таким образом, в ходе проведенного исследования нами установлено, что наиболее выраженным дезинфицирующим эффектом обладала фильтрующая система, в которой полиазолидидаммоний, модифицированный гидрат ионами галогенов, наносили на бентонитовые гранулы, полученные путем отжига при температуре 800 °С. При комбинации дезинфицирующего и адсорбционного слоев возможно создание фильтрующей системы, которая является инновационной и перспективной для целей водоподготовки, особенно из поверхностных источников водоснабжения.

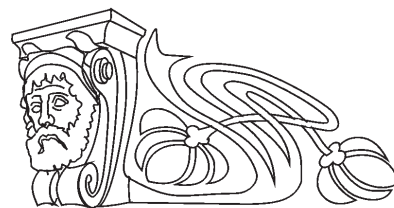
## Список литературы

1. Демидова И. А., Гутенев В. В. Дезинфектанты для технологий водоподготовки в чрезвычайных экологических ситуациях: проблема выбора // Экономика природопользования. 2005. № 6. С. 86–105.
2. Николадзе Г. И. Технология очистки природных вод. М. : Высш. шк., 1987.
3. Прокопов В. А., Мактаз Э. Д., Толстопятова Г. В. Влияние отдельных факторов на образование тригалогенметанов в хлорированной воде // Химия и технология воды. 1993. Т. 15, № 9/10. С. 633–640.
4. Слипченко А. В., Кульский Л. А., Мацкевич Е. С. Современное состояние методов окисления примесей воды и перспективы хлорирования // Химия и технология воды. 1990. Т. 12, № 4. С. 326–346.
5. Пат. 2428249 РФ, МПК В01J20/20 / В01J20/16 / В82В3/00 Гранулированный наносорбент и способ его получения / Сержантов В. Г., Скиданов Е. В., заявители Закрытое акционерное общество «Научно-производственная компания МЕДИАНА-ФИЛЬТР» (RU), Общество с ограниченной ответственностью Научно-производственное предприятие «ЛИССКОН» (RU), заявл. 13.07.09, опубл. 10.09.11, Бюл. № 25. 10 с.
6. Пат. 2429906 РФ, МПК В01J20/20 / В01J20/16 / В82В3/00 Комплексный гранулированный наносорбент / Сержантов В. Г., Скиданов Е. В., Гороховский А. В., заявители Общество с ограниченной ответственностью Научно-производственное предприятие «ЛИССКОН» (RU), заявл. 29.12.09, опубл. 27.09.2011, Бюл. № 27. 9 с.
7. Бродский Ю. А. Органобентонит – ключ к повышению качества целого ряда технологий // Координатор инноваций. 2003. № 1. С. 27–28.
8. Заярский Д. А., Портнов С. А., Горин Д. А. Формирование покрытий на основе микрочастиц трис(8-гидроксихинолина)алюминия с наноразмерной полиэлектролитной оболочкой методом электрофоретического осаждения // Нано- и микросистемная техника. 2012. № 5. С. 33–37.



УДК 579.66. 504.06

## ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ГРИБА *LENTINUS (PANUS) TIGRINUS* НА ДРЕВЕСНЫЕ ОТХОДЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОКОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ



В. В. Шутова, В. В. Ревин, Т. В. Кудяева

Мордовский государственный университет  
E-mail: vshutova@yandex.ru

Проведено глубинное культивирование гриба *Lentinus (Panus) tigrinus* в средах с древесными отходами – сосновыми и березовыми опилками. Более значительная убыль лигнина и целлюлозы наблюдалась при использовании березовых опилок. Деградация лигнина в обоих случаях выражена больше, чем целлюлозы. Активность лигнолитических ферментов коррелировала с потреблением лигнина. Максимальная активность лакказы отмечена в среде с 3% березовых опилок, Mn-пероксидазы – в среде с 5% субстрата. Получены биокomпозиционные материалы на основе биомодифицированных древесных отходов.

**Ключевые слова:** *Lentinus (Panus) tigrinus*, лигнолитические грибы, глубинное культивирование, березовые и сосновые опилки, лигнин, целлюлоза.

### Study of the Fungus *Lentinus (Panus) Tigrinus* on Wood Waste Used to Produce the Bio-composite Materials

V. V. Shutova, V. V. Revyn, T. V. Kudayeva

Submerged cultivation of the fungus *Lentinus (Panus) tigrinus* in the media with waste wood – pine and birch sawdust was conducted. A more significant decrease of lignin and cellulose was observed with the use of birch sawdust. Degradation of lignin in both cases expressed in more than cellulose. Activity lignolytic enzymes correlated with the consumption of lignin. Maximum laccase activity observed in the medium with 3% birch sawdust, Mn-peroxidase – in a medium with 5% of the substrate. Biocomposite materials were manufactured based on the modified wood waste.

**Key words:** *Lentinus (Panus) tigrinus*, lignolytic fungi, submerged cultivation, birch and pine sawdust, lignin, cellulose.

В настоящее время на лесоперерабатывающих предприятиях страны образуется много древесных отходов, которые способны загрязнять окружающую среду, с другой стороны, на их основе можно получать ценные продукты. Одним из вариантов использования таких отходов является производство древесно-стружечных плит. Альтернативой традиционным технологиям их производства может служить биотехнологический способ, заключающийся в предварительной биомодификации древесины грибами, вызывающими «белую гниль» [1]. Лигнолитические грибы способны переводить

лигнин, являющийся своего рода клеем в нативной древесине, в активное состояние и производить разрыв лигнин-углеводных связей, высвобождая функциональные группы лигнина [2]. Традиционным способом выращивания грибов является твердофазное культивирование на растительных субстратах. Но этот способ очень дорог и не гарантирует безопасности для человека и окружающей среды. Наиболее эффективным является глубинное культивирование, способствующее быстрому и продуктивному росту грибов. Кроме того, выращивание высших грибов в глубинной культуре позволяет значительно интенсифицировать процесс и сделать его экологически безопасным.

Микроорганизмы, относящиеся к группе грибов «белой гнили», обладают способностью разрушать молекулы лигнина – одного из самых труднодеградируемых биополимеров в природе [3]. Прямое окисление полимерного лигнина осуществляется внеклеточными ферментами, обычно – это лигнинпероксидаза, Mn-пероксидаза и лакказы [2]. Способность лигнолитических базидиомицетов продуцировать лакказу считается характерным признаком лигнолитических грибов, отличающим их от других дереворазрушающих грибов, не способных разлагать лигнин. Пероксидазы, выделенные из различных грибов, даже очень близких таксономически, значительно различаются по своим физико-химическим свойствам, по субстратной специфичности и по степени участия в биодеградации лигнина. По мнению ряда авторов, пероксидаза обладает более широким субстратным спектром, чем другие ферменты лигнолитического комплекса. Лакказу используют для детоксикации сточных вод [4], в иммуноферментном анализе, производстве композиционных материалов [5].

В работе мы исследовали изменение основных компонентов березовых и сосновых опилок при глубинном культивировании на них *Lentinus (Panus) tigrinus*, а также его лигнолитическую активность.





### Материалы и методика

Гриб *Lentinus (Panus) tigrinus* штамм 317 (ВКМ F-3616 D), разрушающий лигнин, выделен и селекционирован на кафедре биотехнологии Мордовского госуниверситета и депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов.

Посевной материал выращивали в колбах объемом 250 мл при 27 °С в глубинных условиях на среде Чапека–Докса следующего состава (г/л):  $\text{NaNO}_3$  – 3;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,5;  $\text{KCl}$  – 0,5;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,01;  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  – 0,22; рН – 6,0; с лигносульфонатом (15 г/л) и сахарозой (20 г/л).

При глубинном культивировании навески субстратов (3, 5 и 7% к объему) помещали в колбы Эрлеймейера со 100 мл среды и стерилизовали 30 мин при 120 °С. Затем инокулировали 10 мл четырехсуточной культуры *L. tigrinus*. Культивирование гриба вели на качалке при температуре 25–26 °С и 200 об/мин. По окончании культивирования субстрат высушивали до постоянной массы при 105 °С и изучали химический состав древесных опилок.

Общее содержание лигнина в опилках до и после воздействия гриба определяли весовым методом [6]. Количество редуцирующих сахаров определяли по реакции с пикриновой кислотой, целлюлозы – по методу, описанному в работе [7], белка – по методу [8].

Лакказную активность в культуральной жидкости регистрировали по начальной скорости окисления пирокатехина при 410 нм [9]. За единицу активности принимали количество фермента, которое за 1 мин при 30 °С образует 1 мкмоль продукта.  $\text{Mn}^{2+}$ -пероксидазную активность определяли по окислению фенолового красного [10].

### Результаты и их обсуждение

Выращивание гриба *Lentinus (Panus) tigrinus* ВКМ F-3616 D вели в колбах в среде Чапека–Докса с добавлением березовых и сосновых опилок. В среде содержалось много легкоусвояемых сахаров (30 г/л сахарозы), что обеспечило высокое количество биомассы.

Хороший рост гриба был обнаружен в среде с опилками березы и сосны в концентрации 3 и 5%, однако 7% субстрата в среде практически полностью подавляли рост *L. tigrinus*. К третьим суткам были видны единичные пеллеты диаметром 1 мм.

Расщепление целлюлозы осуществляется гидролитическими ферментами – эндо- и экзоглюканазами, целлобиогидролазами и целлобиазами. Они способны расщеплять трудноусвояемые

нативные молекулы целлюлозы до низкомолекулярных фрагментов – целлобиозы, глюкозы и т. д.

Количество целлюлозы снижалось в течение всего срока культивирования (рис. 1, а). Исключением были варианты с концентрацией опилок 7%, где изменения содержания целлюлозы не наблюдалось. Видимо, такая высокая концентрация опилок ингибирует рост гриба, продукцию целлюлолитических ферментов или их активность.

При культивировании на опилках березы с 3% концентрацией уже на 3-и сутки потребление целлюлозы было очень значительным и достигало 19,8%. При увеличении концентрации опилок до 5% на 3-е сутки убыль целлюлозы была невысокой, хотя к 12-м суткам в данном варианте она практически достигала значения варианта с 3% субстрата и составляла 29,2%.

В сосновых опилках целлюлоза потреблялась грибом несколько хуже.

Более значительную убыль целлюлозы древесины березы можно объяснить тем, что гриб лучше растет на древесине лиственных пород. В литературных источниках показано, что естественным субстратом для роста гриба *L. tigrinus* являются лиственные деревья [11].

Таким образом, наибольшее потребление целлюлозы при глубинном культивировании гриба *L. tigrinus* наблюдалось при использовании березовых опилок в концентрации 3%.

Лигнин представляет собой вещество, которое очень трудно подвергается биодegradации. Гриб *L. tigrinus* способен расщеплять лигнинный компонент древесины за счет действия необычного комплекса лигнолитических ферментов, включающий  $\text{Mn}$ -зависимую пероксидазу и лакказу. Известно, что биодegradация лигнина базидиомицетами зависит от активности лигнолитических ферментов и интенсивности роста гриба.

Снижение содержания лигнина наблюдалось во всех вариантах на протяжении заданного времени культивирования, кроме случая с 7% субстрата (рис. 1, б), где, как и в случае с целлюлозой, изменения компонента не наблюдалось.

Максимальное потребление лигнина было в среде с березовыми опилками в концентрации 5% (58,1% к 12-м суткам), менее значительное – зафиксировано в варианте с древесиной сосны в концентрации 5% (20,3%). Лигнин березовых опилок более доступен ферментам гриба, поэтому убыль его была больше.

При сравнении данных по потреблению лигнина с данными по потреблению целлюлозы можно отметить, что процесс разложения лигнина данным грибом преобладает над разложением целлюлозы.

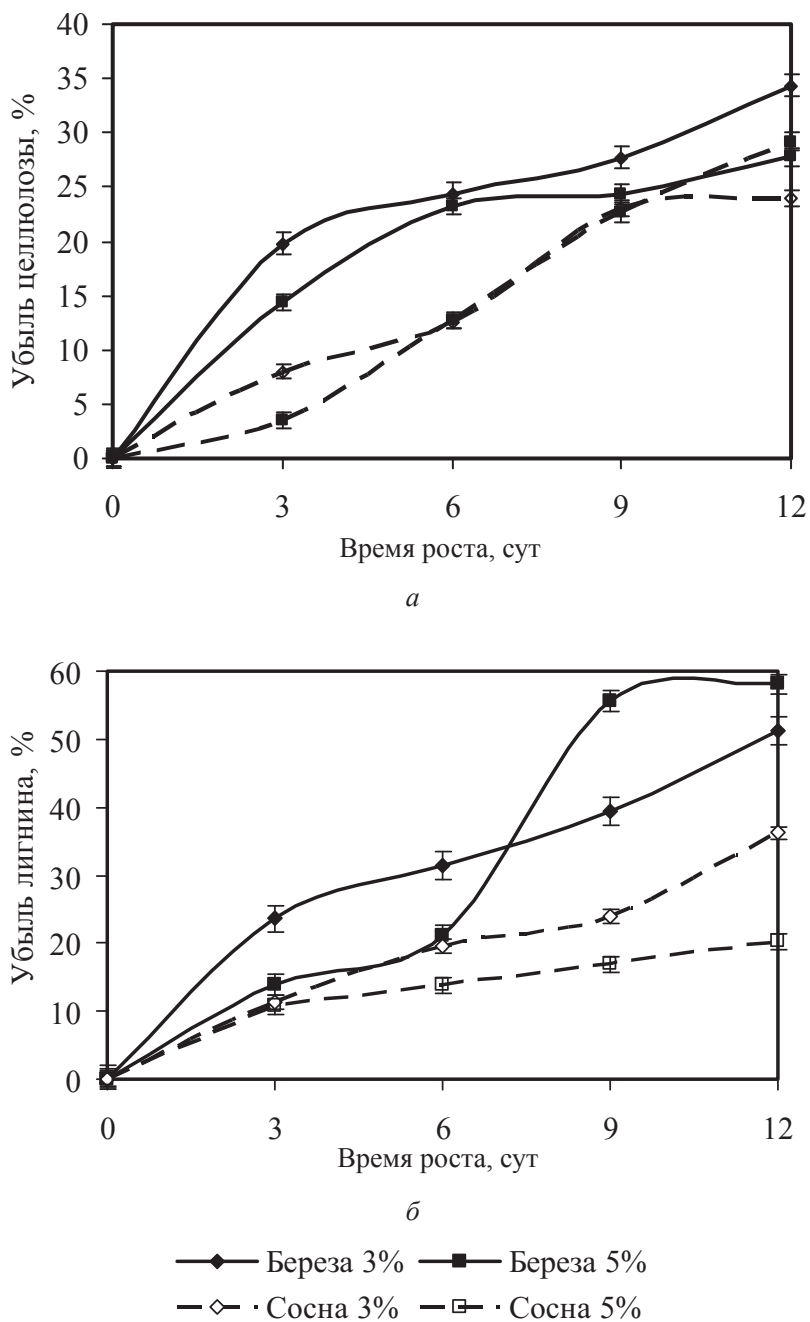


Рис. 1. Убыль целлюлозы (а) и лигнина (б) при росте *L. tigrinus* в среде с древесными опилками

Хотя данные литературных источников говорят о том, что на первых этапах грибы разлагают полисахариды [12], в нашем случае лигнин разлагался на самых ранних этапах роста. Очевидно, что гриб *L. tigrinus* является активным лигнолитическим грибом, который преимущественно потребляет лигнин и в меньшей степени целлюлозу.

Для активного роста дереворазрушающих грибов требуется источник углеводов. В древесине им, прежде всего, служат свободные сахара и

легкогидролизуемые гемицеллюлозы. В процессе роста лигнинразрушающие грибы первоначально потребляют свободные сахара и производят гидролиз полисахаридов до моносахаридов, которые затем утилизируются грибами.

Содержание редуцирующих веществ в среде с опилками в концентрации 3 и 5% повышалось с третьих по двенадцатые сутки и достигало 1,2 – 1,25 мг/мл у березы и 0,91 – 0,96 мг/мл у сосны (рис. 2, а). Увеличение редуцирующих сахаров

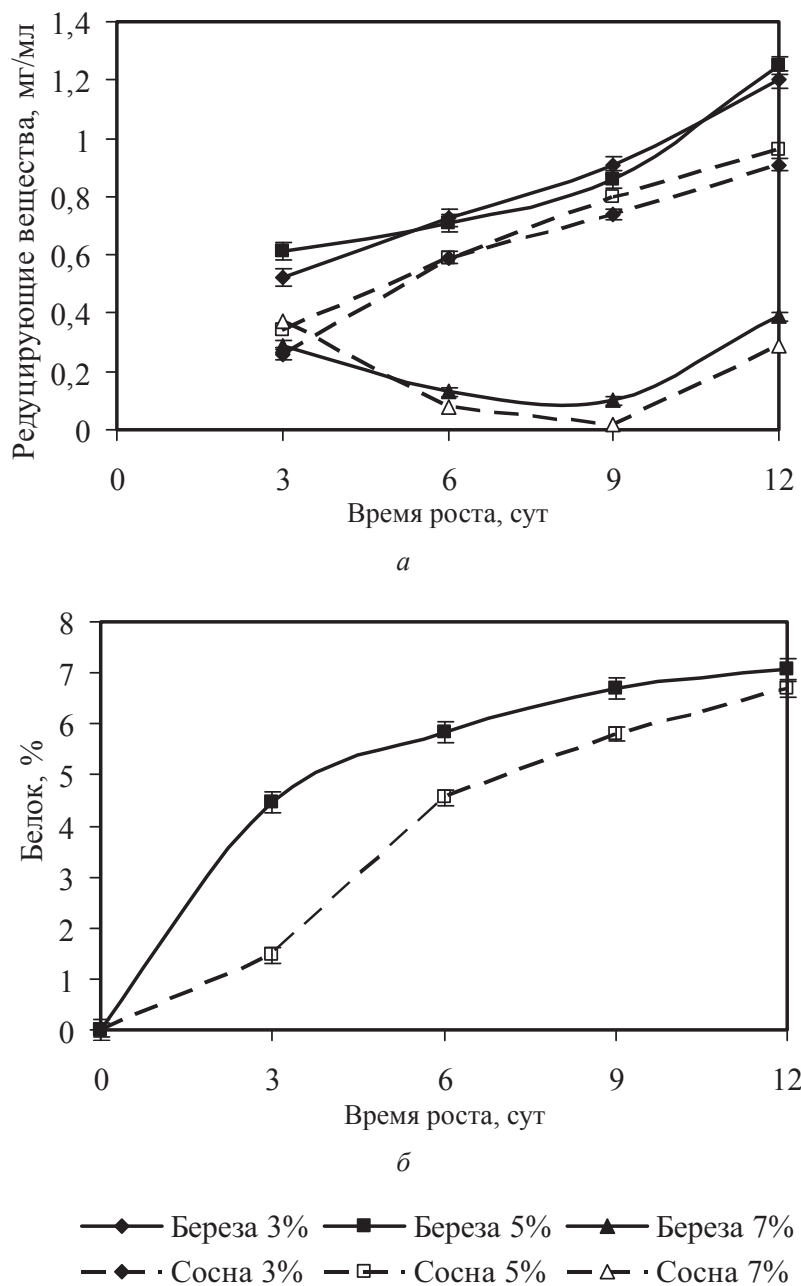


Рис. 2. Динамика редуцирующих сахаров (а) и белка (б) при росте *L. tigrinus* в среде с древесными опилками

можно объяснить тем, что на протяжении всего времени культивирования целлюлоза претерпевала деструкцию грибными ферментами, что способствовало активному ее разрушению. В результате разрушения целлюлозы в среде образовывались продукты ее гидролиза, в частности целлобиоза и глюкоза, которые накапливались в среде.

В варианте с концентрацией опилок 7% наблюдалось снижение редуцирующих сахаров с 3-х по 9-е сутки с 0,29 до 0,1 мг/мл у березы и с 0,37 до 0,02 мг/мл у сосны. На 12-е сутки про-

исходило повышение их количества. Поскольку рост на среде с 7% растительного субстрата был крайне скудным, можно предположить, что он происходил за счет сахаров среды, с чем и связано уменьшение количества редуцирующих веществ. Так как слабый рост на среде с 7% опилок все же наблюдался, то в процессе роста он мог выделять в среду литические ферменты, которые разрушали полисахариды опилок, в результате чего количество редуцирующих веществ к 12-м суткам несколько возросло.



Составной частью мицелия дереворазрушающих грибов являются белки и полисахариды. Клеточные оболочки состоят из хитина (азотсодержащего полисахарида, аналога целлюлозы), соединений типа гемицеллюлоз и их метилированных производных, а также пектиновых и лигноподобных веществ. Количество биомассы оценивали по содержанию белка, так как оно относительно постоянно для мицелия грибов и составляет, по литературным данным, у разных грибов «белой гнили» от 25 до 47% на сухой вес гриба [13].

При содержании субстрата 3 и 5% получены практически одинаковые значения белка, поэтому на рис. 2, б представлена динамика только для 5%. При глубинном культивировании *L. tigrinus* лучший рост наблюдался в среде с 3 и 5% березовых опилок, где содержание белка составило к 12-м суткам 7,1%. В варианте с 3 и 5% опилок сосны количество белка к этому времени увеличилось до

6,6–6,7%. Активный рост базидиомицета в случае использования березовых опилок начался раньше. И в том и другом варианте накопление белка происходило вплоть до 12 суток. При концентрации опилок в среде 7% используемым методом белок обнаружен не был.

Максимумы лакказной активности, определяемой по пирокатехину, в средах с содержанием березовых опилок 3 и 5% наблюдались на 3-и сутки роста, после чего происходило ее снижение. Позже проявлялся второй пик, однако он не достигал уровня первого. Несмотря на отсутствие заметного изменения количества лигнина в субстрате при концентрации опилок 7%, лакказная активность гриба была достаточно высокой. Ее максимум лишь отодвигался к 6-м суткам и был единственным (рис. 3). Наибольшая активность фермента была зафиксирована на среде с 3% березовых опилок, на 3-и сутки роста она составила 38,3 ед/мл.

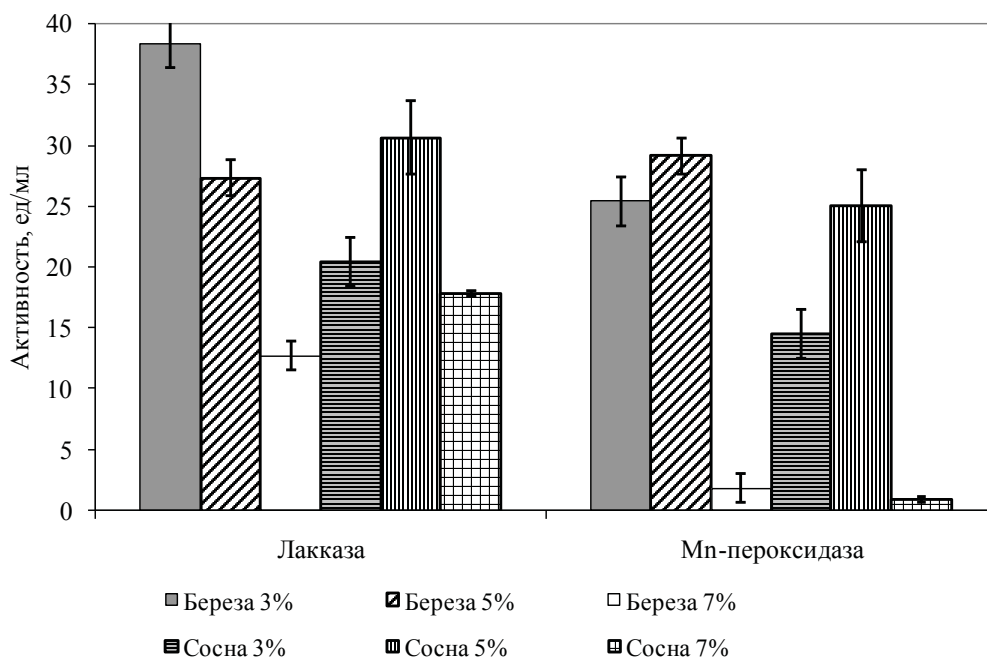


Рис. 3. Максимальные значения активности лигнолитических ферментов *L. tigrinus* в среде с древесными опилками

На сосновых опилках при всех концентрациях максимумы активности лакказы наблюдались на 3-и сутки, а на 9-е сутки был обнаружен второй пик. Самая высокая лакказная активность отмечена на среде с 5% субстрата, но она была ниже – 30,6 ед/мл. *L. tigrinus* является видом, который растет преимущественно на лиственных породах деревьев, в связи с чем, вероятно, было отмечено снижение абсолютных значений активности на среде с сосновыми опилками.

Известно, что лигнолитический комплекс *L. tigrinus* включает лакказу, Mn-зависимую пероксидазу и пероксидазу растительного типа [14, 15], поэтому мы также изучали активность Mn-пероксидазы, зависящую от ионов марганца. Начальным субстратом фермента является  $Mn^{+2}$ , который преобразуется в высокорекреакционный  $Mn^{+3}$ -хелатный комплекс, способный окислять многие фенольные субстраты. Mn-пероксидазную активность *L. tigrinus* на средах с опилками ис-



следовали по окислению фенолового красного в присутствии  $Mn^{+2}$  и пероксида водорода.

При выращивании на березовых опилках наблюдали примерно одинаковые динамики проявления активности фермента на средах с 3 и 5% субстрата. На 3-и сутки активность была высокой, затем наблюдалось ее снижение, и к 12-м суткам она резко возростала, причем в среде с 3% опилок даже превысила уровень 3-х суток. Возможно, это связано с тем, что функция Mn-пероксидазы заключается в окислении фенольных субстратов, включая фенольные лигниновые соединения [16], а их количество может возрасти в результате действия лакказы, максимум активности которой зафиксирован на 3-и сутки.

На сосновых опилках пики при всех концентрациях наблюдались на 3-и сутки, а на 9-е сутки был отмечен второй пик. Самая высокая Mn-пероксидазная активность зафиксирована на среде с 5% субстрата (25 ед/мл).

Таким образом, активность лигнолитических ферментов коррелировала с потреблением лигнина. Максимальная активность лакказы и Mn-пероксидазы отмечена на среде с березовыми опилками в концентрации 3–5%.

Микробиологическая трансформация древесной массы в заданном направлении открывает новый путь создания экологически чистых плит, так как использование в строительной биотехнологии широко распространенных в природе грибов «белой гнили», относящихся к съедобным видам, не представляет угрозы для человека. При этом устраняется главный недостаток традиционных технологий – использование токсичных для человека синтетических смол и отвердителей.

Мы изготовили композиционные материалы путем прессования высушенных биомодифицированных сосновых опилок. Предварительная обработка инокулятом гриба увеличивает прочность при статическом изгибе биоконструктивов от 7,8 МПа до 18,8 МПа при оптимальном режиме прессования. Полученные древесно-стружечные плиты можно использовать в качестве конструкционного материала после ламинирования или введения гидрофобных компонентов с целью снижения их высокой гидрофильности.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (госконтракт № 11.519.11.5019 от 28.10.2011).*

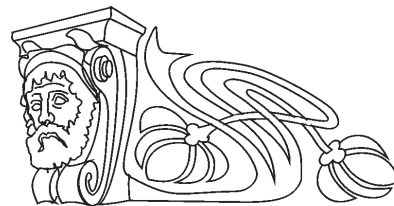
### Список литературы

1. Ревин В. В., Кадималиев Д. А., Шутова В. В., Самуилов В. Д. Модификация лигнина древесины грибом *Panus tigrinus* // Прикладная биохимия и микробиология. 2002. Т. 38, № 5. С. 529–533.
2. Ревин В. В., Шутова В. В., Кадималиев Д. А., Атыкян Н. А., Ведяшклина Т. А., Ивинкина Т. И. Теоретические и прикладные основы получения биокомпозиционных материалов с помощью биологических связующих. Саранск, 2010. 280 с.
3. Dashtban M., Schraft H., Syed T. A., Qin W. Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin // Intern. J. Biochem. Mol. Biol. 2010. Vol. 1, № 1. P. 36–50.
4. Babic J., Likozar Bl., Pavko Al. Optimization of ligninolytic enzyme activity and production rate with *Ceriporiopsis subvermispora* for application in bioremediation by varying submerged media composition and growth immobilization support // Intern. J. Mol. Sci. 2012. Vol. 13, № 9. P. 11365–11384.
5. Hüttermann A., Mai C., Kharazipour A. Modification of lignin for the production of new compounded materials // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2001. Vol. 55. P. 387–394.
6. Updegraff D. M. Semimicro determination of cellulose in biological materials // Anal. Biochem. 1969. Vol. 32. P. 420–424.
7. Кадималиев Д. А., Ревин В. В., Шутова В. В., Самуилов В. Д. Использование гриба *Panus tigrinus* для производства прессованных материалов из отходов хлопчатника // Прикладная биохимия и микробиология. 2004. Т. 40, № 1. С. 57–61.
8. Бузун Г. А., Джемухадзе К. Н., Милешко Л. Д. Определение белка в растениях с помощью амидо-черного // Физиол. растений. 1982. Т. 29, вып. 1. С. 198–204.
9. Синицин А. П., Черноглазов В. П., Гусаков А. В. Методы изучения и свойства целлюлолитических ферментов // Итоги науки и техники. Сер. Биотехнология. М., 1990. Т. 25. С. 25–152.
10. Papinutti V. L., Diorio L. A. Forchiassin F. Production of laccase and manganese peroxidase by *Fomes sclerodermeus* grown on wheat bran // J. Industrial Microbiology. 2003. Vol. 1. P. 1–8.
11. Даниляк Н. И., Семичаевский В. Д., Дудченко Л. Г., Трутнева И. А. Ферментные системы высших базидиомицетов. Киев, 1989. 278 с.
12. Ахмедова З. Р., Белецкая О. П., Далимова Г. Н., Халикова М. М., Азимходжаева М. Н., Давранов К. Д., Шарипова А. А. Отбор и культивирование целлюлозо- и лигнинразрушающих грибов // Микробиология. 1994. Т. 63, № 5. С. 929–935.
13. Бисько Н. А., Бухало А. С., Вассер С. П. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре. Киев, 1983. 312 с.
14. Ревин В. В., Кадималиев Д. А., Атыкян Н. А., Суткин Б. В. Свойства пероксидазы гриба *Panus tigrinus* // Биохимия. 2000. Т. 65, № 11. С. 1305–1309.
15. Шутова В. В., Ревин В. В., Мякушина Ю. А. Влияние ионов меди на продукцию лакказы грибом *Lentinus (Panus) tigrinus* // Прикладная биохимия и микробиология. 2008. Т. 44, № 6. С. 683–687.
16. Дзедзюля Е. И., Беккер Е. Г. Mn-пероксидаза из *Vjerkandera adusta* 90-41 : выделение и субстратная специфичность // Биохимия. 2000. Т. 65, № 6. С. 829–835.



УДК 581.9 (470.44)

## ВИДОВОЙ СОСТАВ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА ОСОКОВЫЕ НА АНТРОПОГЕННЫХ МЕСТООБИТАНИЯХ ЮЖНОЙ ЧАСТИ ПРИВОЛЖСКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ



Т. Б. Решетникова, М. А. Березуцкий

Саратовский государственный университет  
E-mail: rtb-55@mail.ru; berezutsky61@mail.ru

Изучены видовой состав и распространение видов семейства Осоковые (Cyperaceae Juss.) на антропогенных местообитаниях южной части Приволжской возвышенности (в границах Саратовской области): урбанизированных территорий, техногенных участков, искусственных лесных насаждений, агроценозов. Выявлено 27 видов (или 47,4% от всех осоковых исследуемого региона). Активнее всего представители данного семейства осваивают техногенные местообитания (железнодорожные насыпи, искусственные водоемы, кюветы, карьеры, котлованы и т.д.). Только три вида данного семейства обнаружены нами сразу на всех основных типах биотопов, созданных человеком – *Carex supina*, *C. muricata*, *C. praecox*. У родов *Eleocharis*, *Cyperus*, *Bolboschoenus* и *Dichostylis* на антропогенных местообитаниях обнаружены все виды, которые имеются у данных родовых комплексов в исследуемом регионе. Не обнаружен ни один вид из девяти видов семейства Cyperaceae Juss., занесенных во второе издание «Красной книги Саратовской области» (2006). Предполагается, что более детальное изучение флоры биотопов, созданных или сильно преобразованных человеком, на территории южной части Приволжской возвышенности, в частности, таких их типов, как техногенные водоемы и искусственные лесные насаждения, позволит в будущем расширить представление о видовом составе и распространении представителей семейства Cyperaceae Juss. на антропогенных местообитаниях этого региона.

**Ключевые слова:** видовой состав, семейство Cyperaceae Juss., антропогенные местообитания, урбанизированные территории, Красная книга.

### Specific Structure and Distribution of Representatives of Family Sedge on Anthropogenous Habitats of the Southern Part of Volga Hills

T. B. Reshetnikova, M. A. Berezutski

The specific structure and distribution of types of family sedge (Cyperaceae Juss.) on anthropogenous habitats of the southern part of Volga Hills (in borders of the Saratov region) are studied: the urbanized territories, technogenic sites, simulated forest plantings, crops of cultural plants. 27 types (or 47,4% from all sedge the studied region) are revealed. Most actively representatives of this family master technogenic habitats (railway embankments, simulated reservoirs, basins, pits, ditches, etc.). Only three types of this family are found by us at once on all main types of the biotopes created by the person – *Carex supina*, *C. muricata*, *C. praecox*. U of the sorts *Eleocharis*, *Cyperus*, *Bolboschoenus* and *Dichostylis* on anthropogenous habitats found all types which are available for

these patrimonial complexes in the studied region. Any view from nine types of Cyperaceae Juss. family entered in the second edition «Red List of the Saratov region» (2006) is not found. It is supposed that more detailed studying of flora of the biotopes which created or have been strongly transformed by the person, in the territory of the southern part of Volga Hills, in particular, their such types as technogenic reservoirs and simulated forest plantings, will allow to expand in the future idea of specific structure and distribution of representatives of Cyperaceae Juss. family on anthropogenous habitats of this region.

**Key words:** specific structure, Cyperaceae Juss. Family, the anthropogenous habitats, the urbanized territories, the Red book.

В большинстве областей европейской части России к настоящему моменту видовой состав аборигенных сосудистых растений выявлен достаточно полно или этот процесс близится к завершению. Поэтому необходимо переходить к следующему этапу изучения флоры – выявлению степени гемеробии каждого аборигенного вида, изучению способности видов растений произрастать на антропогенных местообитаниях, выяснению степени их антропоотолерантности в целом. На территории Саратовской области начата работа по выяснению степени антропоотолерантности видов сосудистых растений. В частности, опубликованы данные по папоротникам и орхидным, произрастающим на антропогенных местообитаниях [1, 2]. Настоящая статья посвящена видовому составу и распространению видов семейства Осоковые (Cyperaceae Juss.) на антропогенных местообитаниях южной части Приволжской возвышенности (в границах Саратовской области).

### Материал и методика

В период 1987–2012 гг. нами было проведено изучение флористических комплексов основных типов антропогенных биотопов южной части Приволжской возвышенности (в границах Саратовской области): урбанизированных территорий, техногенных участков, искусствен-



ных лесных насаждений, агроценозов. При изучении урбанофлоры г. Саратова в список не включались виды, произрастающие на участках естественных ценозов, вошедших в городскую черту в последние десятилетия. Для выявления флоры техногенных местообитаний изучался видовой состав железнодорожных насыпей и насыпей автомобильных дорог, карьеров, отвалов, гидротехнических сооружений (прудов, плотин, бетонированных берегов). К агроценозам, помимо классических территорий сельскохозяйственного назначения – полей, залежей, садов (культивируемых и заброшенных) – нами были отнесены также дачные и огородные участки, в большом количестве появившиеся в окрестностях городов. При этом учитывались виды не только на самом дачном участке, но и растущие непосредственно вдоль забора.

### Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований на антропогенных местообитаниях южной части Приволжской возвышенности к настоящему моменту выявлены следующие виды семейства Осоковые (Cyperaceae Juss.):

*Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla. Урбанизированные территории (г. Саратов); пруды (Саратовский, Татищеский районы); дренажные кюветы у железнодорожных насыпей (Саратовский, Татищеский районы).

*Carex acuta* L. Дренажные кюветы у железнодорожных насыпей (Татищеский район); бетонированные берега р. Волги (Саратовский район).

*C. caryophyllea* Latourg. Искусственные лесные насаждения (Петровский район).

*C. colchica* J.Gay. Железнодорожные насыпи (Татищеский район, на песчаной отсыпке).

*C. contigua* Норре. Урбанизированные территории (г. Саратов); искусственные лесные насаждения (Саратовский, Татищеский районы); сады (Хвалынский район).

*C. digitata* L. Железнодорожные насыпи (Саратовский район); искусственные лесные насаждения (Аткарский район).

*C. hirta* L. Урбанизированные территории (г. Саратов); железнодорожные насыпи (Саратовский район).

*C. liparocarpos* Gaud. Железнодорожные насыпи (Саратовский район). Экземпляры этой адвентивной осоки были собраны в 2001 г. на насыпи между станцией Багаевка и о.п. 19-й км и определены нами как *C. liparocarpos* Gaud. Однако проф. Ю. Е. Алексеев (МГУ) не согла-

сился с нашим определением и детерминировал данные экземпляры как *C. turkestanica* Regel. Под этим названием сборы были опубликованы в нашей статье [3] и упоминаются в обработке данного рода во «Флоре Нижнего Поволжья» [4]. Монограф рода *Carex* Т. В. Егорова (БИН РАН), ознакомившись с этими сборами, подтвердила наше определение как *C. liparocarpos* Gaud. Так вид приводится в последней по времени издания флористической сводке по Саратовской области [5].

*C. melanostachya* Bieb. ex Willd. Урбанизированные территории (г. Саратов); железнодорожные насыпи (Красноармейский, Саратовский, Татищеский районы), бетонированные берега р. Волги (Саратовский район); дачные участки (Саратовский район).

*C. michelii* Host. Искусственные лесные насаждения (Воскресенский район).

*C. muricata* L. Урбанизированные территории (г. Саратов); железнодорожные насыпи (Саратовский район); искусственные лесные насаждения (Аткарский, Татищеский районы); культивируемые и заброшенные сады (Саратовский, Хвалынский районы).

*C. pilosa* Scop. Искусственные лесные насаждения (Петровский, Новобураский районы).

*C. praecox* Schreb. Урбанизированные территории (г. Саратов); искусственные лесные насаждения (Петровский, Саратовский, Аткарский, Татищеский, Хвалынский районы); железнодорожные насыпи (Саратовский, Татищеский районы); дачные участки (Саратовский район).

*C. pseudocyperus* L. Пруды (Саратовский, Хвалынский районы); дренажные кюветы у железнодорожных насыпей (Петровский район).

*C. riparia* Curt. Пруды (Саратовский район).

*C. stenophylla* Wahlenb. Урбанизированные территории (г. Саратов).

*C. supina* Willd. ex Wahlenb. Урбанизированные территории (г. Саратов); искусственные лесные насаждения (Аткарский, Татищеский, Петровский районы); железнодорожные насыпи (Саратовский, Петровский районы); дачные участки (Саратовский район); заброшенные сады (Саратовский район).

*C. vulpina* L. Дренажные кюветы у железнодорожных насыпей (Саратовский район).

*Cyperus fuscus* L. Урбанизированные территории (г. Саратов); пруды (Саратовский, Татищеский районы); котлованы (Саратовский район).



*C. glomeratus* L. Песчаная насыпь моста (Саратовский район).

*Dichostylis micheliana* (L.) Nees. Песчаные карьеры на берегу р. Волги (Саратовский район).

*Eleocharis acicularis* (L.) Roem. et Schult. Пруды (Татищевский район).

*E. palustris* (L.) Roem. et Schult. Пруды (Татищевский район).

*E. uniglumis* (Link) Schult. Урбанизированные территории (г. Саратов); пруды (Татищевский район).

*Scirpus lacustris* L. Урбанизированные территории (г. Саратов); пруды (Татищевский район); бетонированные берега р. Волги (Саратовский район).

*S. sylvaticus* L. Дренажные кюветы у железнодорожных насыпей (Петровский район); пруды (Саратовский район).

*S. tabernaemontani* C. C. Gmel. Пруды (Татищевский район).

Таким образом, из 57 видов семейства *Suregaceae* Juss., встречающихся на территории южной части Приволжской возвышенности (в границах Саратовской области) [5,6], на антропогенных местообитаниях данного региона представлено 27 видов (или 47,4%). Активнее всего представители данного семейства осваивают техногенные местообитания (железнодорожные насыпи, искусственные водоемы, кюветы, карьеры, котлованы и т.д.). На данном типе биотопов обнаружено 77,8% от всех видов, встреченных на антропогенных местообитаниях. К урбанизированным территориям приурочено 40,7% видов, к искусственным лесным насаждениям – 29,6%; к различным типам агроценозов – всего 18,5%. Только три вида данного семейства были обнаружены нами одновременно на всех основных типах биотопов, созданных человеком – *Carex supina*, *C. muricata*, *C. praecox*.

У родов *Eleocharis*, *Cyperus*, *Bolboschoenus* и *Dichostylis* на антропогенных местообитаниях были отмечены все виды, которые имеются у данных родовых комплексов в исследуемом регионе. Представители родов *Eriophorum* и *Scirpodes* на антропогенных биотопах южной части Приволжской возвышенности к настоящему времени не найдены. У рода *Scirpus* на антропогенных местообитаниях обнаружено 60,0% от общего числа видов данного таксона в регионе; у рода *Carex* – 40,5%. Представители подрода *Carex* несколько хуже представлены на местообитаниях, созданных человеком, чем

представители подрода *Vigneia* (36,7 и 50,0% соответственно).

К настоящему времени на антропогенных местообитаниях южной части Приволжской возвышенности не обнаружен ни один вид из девяти видов семейства *Suregaceae* Juss., занесенных во второе издание «Красной книги Саратовской области» [7]. Это резко контрастирует с данными по семейству *Orchidaceae* Juss., у которого на антропогенных биотопах Саратовской области обнаружено около 40% видов из занесенных в список охраняемых растений данного региона [2]. Таким образом, можно предположить, что список охраняемых видов семейства *Suregaceae* Juss. в «Красной книге Саратовской области» [7] более адекватно отражает степень их антропо-толерантности.

Очевидно, некоторые из видов семейства *Suregaceae* Juss. южной части Приволжской возвышенности, которые пока не были найдены нами на антропогенных биотопах исследуемого региона, обладают, вероятно, некоторыми потенциальными возможностями к освоению данного типа местообитаний. В частности, для антропогенных местообитаний Нижнего Поволжья указываются *Carex vesicaria* L., *C. tomentosa* L., *C. nigra* (L.) Reichard, *C. leporina* L., *C. elongata* L., *C. canescens* L., *Scirpus supinus* L. [4]. В Самарской области на антропогенных биотопах отмечен вид *Carex hartmanii* Cajand. [8]. Можно предположить, что более детальное изучение флоры биотопов, созданных или сильно преобразованных человеком, на территории южной части Приволжской возвышенности, в частности, таких их типов, как техногенные водоемы и искусственные лесные насаждения, позволит нам расширить представление о видовом составе и распространении представителей семейства *Suregaceae* Juss. на антропогенных местообитаниях этого региона.

#### Список литературы

1. Березуцкий М. А., Павловский А. М. Особенности распространения и некоторые аспекты экологии папоротниковидных в антропогенных местообитаниях на севере Нижнего Поволжья // Поволж. эколог. 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. эколог. журн. 2012. № 4. С. 455–458.
3. Березуцкий М. А., Скворцова И. В., Сухоруков А. П. Новые адвентивные виды в Липецкой, Тамбовской





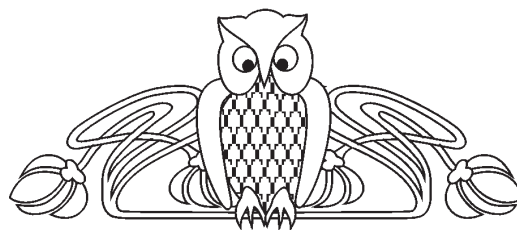
- и Саратовской областях и их распространение на территории Средней России // Ботан. журн. 2004. Т. 89, № 3. С. 484–491.
4. Алексеев Ю. Е. Род *Carex* – Осока // Флора Нижнего Поволжья. Т. 1. М.: КМК, 2006. С. 279–311.
  5. Еленевский А. Г., Буланый Ю. И., Радыгина В. И. Конспект флоры Саратовской области. Саратов: Наука, 2008. 232 с.
  6. Конспект флоры Саратовской области. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 1983. Ч. 4. 64 с.
  7. Красная книга Саратовской области: Грибы, лишайники, растения, животные. Саратов: Изд-во Торг.-пром. палаты Саратов. обл., 2006. 528 с.
  8. Устинова А. А., Ильина Н. С., Митрошенкова А. Е. и др. Сосудистые растения Самарской области. Самара: ИПК «Содружество», 2007. 400 с.

УДК 574.42:574.472

## ПРОЦЕССЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БАНКОВ СЕМЯН ЛЕСНЫХ СООБЩЕСТВ САРАТОВСКОГО ПРАВОБЕРЕЖЬЯ

О. Н. Торгашкова

Саратовский государственный университет  
E-mail: torgashkova88@mail.ru



Рассматриваются процессы функционирования почвенного банка семян, реализация его потенциальных возможностей в зависимости от факторов внешней среды, от характера и длительности покоя семян, уровня и длительности сохранения жизнеспособности и особенностей их прорастания в некоторых лесных сообществах Саратовского Правобережья.

**Ключевые слова:** банк семян, покой семян, динамика прорастания, семенная продукция, экологические факторы.

### Processes of Functioning of Seed Banks of Forest Communities Saratov Volga Region

O. N. Torgashkova

Describes the processes of functioning of the soil seed Bank, the realization of his potential possibilities depending on environmental factors, the nature and duration of seed dormancy, level and duration of preservation of viability and peculiarities of their germination in some forest communities Saratov Volga region.

**Key words:** bank of seeds, seed dormancy, germination dynamics, seed production, environmental factors.

Жизнеспособные семена – важнейший компонент каждого растительного сообщества. В семенной банк входят семена различного происхождения: местные, заносные, реликтовые. Они составляют полный запас семян в почве, который, в свою очередь, разделяется на покоящийся семенной банк и активный семенной банк. Свойство семян сохраняться в почве длительное время выработалось у определенной группы растений как приспособление, служащее для сохранения вида и обеспечивающее им совместное существование с другими членами

сообщества [1], поэтому процессы формирования и функционирования семенных банков находятся в тесном взаимодействии с остальными компонентами биогеоценоза. Часто банк семян состоит значительной своей частью из семян растений, произрастающих в данном месте в настоящее время, что обеспечивает устойчивость растительного покрова. В процессе изучения почвенных запасов семян лесных сообществ были выявлены различия в формировании их семенных банков.

В литературе встречаются сведения о почвенном запасе семян в лесных сообществах различных регионов России. По полученным данным составлен список видов растений, семена которых обнаружены в почвах лесов, находящихся в пределах лесной зоны [2]. Сведения о банках семян в почвах лесов Саратовского Правобережья содержатся в работах В. А. Болдырева, О. Н. Торгашковой [3–5].

### Материал и методы исследования

Исследования процессов функционирования банков семян проводились в лесных сообществах Саратовского Правобережья методом лабораторного и полевого проращивания [6]. Термины, говорящие о происхождении семян (реликтовые, инвазионные или заносные, аутохтонные или местные), используется нами в понимании В. В. Петрова [6]. Название видов приводится по П. Ф. Маевскому [7] с изменениями по сводкам С. К. Черепанова [8]. При анализе



типов покоя семян использована классификация типов покоя семян М. Г. Николаевой [9,10] и данные «Справочника по проращиванию покоящихся семян» [11].

### Результаты и их обсуждение

Процесс функционирования банка семян в любом лесном сообществе определяется поступлением, накоплением и оттоком семян. Поступление семян в почву происходит по различным каналам. Прежде всего оно связано с семенной продукцией растений фитоценоза, которая неодинакова во всех сообществах и в значительной мере определяется условиями местообитания и видовым составом сообщества. Следует отметить, что наибольшей семенной продукцией характеризуются светлые леса, где помимо местных семян довольно часто встречаются семена, занесенные с других территорий при их естественном распространении. Наиболее часто семена сорных растений, имеющих широкую амплитуду экологических условий существования, встречаются в лесных сообществах, испытывающих сильные антропогенные нагрузки. На количество заносных семян влияет расположение фитоценозов в рельефе. Так, сообщества, расположенные в верхних частях склонов, содержат в почвенном запасе меньшее число семян, чем сообщества, расположенные в нижних частях. В почве лесных сообществ встречается разное количество реликтовых семян, основная часть которых представлена семенами растений открытых местообитаний. Наибольшим запасом таких семян характеризуются искусственные насаждения, а также участки леса, которые достаточно сильно затронуты деятельностью человека.

Необходимым условием формирования почвенного запаса семян является их способность сохраняться в жизнеспособном состоянии какое-либо время, что обеспечивает их накопление. Так как непосредственным местом обитания семян дикорастущих видов растений является почва, то, прежде всего, ее состав и свойства определяют качественный и количественный состав банка семян. Наибольшим видовым разнообразием и численностью семян характеризуются сообщества, расположенные на песчаных почвах. Почвенные условия этих фитоценозов, очевидно, являются оптимальными для длительного сохранения семян в жизнеспособном состоянии. В почвах супесчаных, суглинистых, каменистых, бескарбонатных жизнеспособных семян значительно меньше.

Самым малым числом семян характеризуются фитоценозы на карбонатных почвах. Семенной банк сообществ на гигроморфных почвах практически полностью состоит из семян видов растений, типичных для влажных местообитаний, что связано со способностью семян этих видов сохранять жизнеспособность в условиях повышенного увлажнения. Таким образом, накопление семян в почве связано с почвенно-грунтовыми условиями сообществ, глубиной заделки семян, а также с некоторыми видовыми особенностями семян, обеспечивающими им длительную жизнеспособность. Часто в семенном банке исследованных сообществ встречаются семена зверобоя продырявленного, мари белой, лапчатки серебристой, клевера среднего, коровяка восточного и некоторых других. Семена этих растений содержатся в почве в значительном количестве, практически во всех слоях почвы, даже на глубине 23–25 см, что свидетельствует об их длительной жизнеспособности.

Почвенный запас семян ежегодно уменьшается за счет их отмирания, поедания животными, прорастания и распространения различными способами. В стратегию жизни семян многих лесных растений не входит долгое сохранение жизнеспособности, поэтому наибольшей потерей семян характеризуются лесные участки, травяной ярус которых большей частью состоит из силвантов. В сообществах, где значительная часть семенного банка представлена семенами степных, сорных и луговых растений, отток семян меньше, т.к. они выработали в процессе эволюции приспособления к накоплению семян в почве.

Для прорастания отдельных видов растений необходим определенный комплекс условий, одним из которых является условие погребения. При проведении экспериментов в природе было выявлено, что в сообществах, не имеющих хорошо выраженной подстилки и сформированного дернового слоя, прорастание семян облегчено и отток семян происходит каждый год. В сообществах с плотным дерновым слоем и мощной лесной подстилкой прорастание семян затруднено (сосняки, дубравы). Это связано как с механической преградой, так и с отсутствием необходимых для прорастания условий, созданных дерновым слоем и подстилкой (недостаток кислорода, влаги и т.д.). В связи с этим отток семян в этих сообществах невелик. Следует отметить, что и во время прорастания может произойти гибель семян, и позднее – гибель проростка. Необходимым условием для укоренения



проростка является достаточная освещенность. Поэтому наибольшая потеря семян, связанная с гибелью проростков, происходящая без последующей семенной компенсации, характерна для затененных лесных участков с большой сомкнутостью крон или густым травяным ярусом (кленовники, липняки и др.).

Таким образом, отток из банка семян в значительной степени связан с реализацией семенного банка или гибелью семян из-за несоответствия их экологических потенций условиям сообществ. Потеря семян может произойти на любой стадии формирования семенного банка.

Функционирование почвенного банка семян, реализация его потенциальных возможностей, помимо факторов внешней среды, во многом определяется биологией семян и выражается в трех аспектах: в характере и длительности покоя семян, уровне и длительности сохранения жизнеспособности и особенностях прорастания.

Морфофизиологический анализ почвенного запаса жизнеспособных семян включает классификацию семян по типам покоя и распределению запасных питательных веществ. В банке семян изученных фитоценозов преобладают семена с эндоспермом из семейств Asteraceae и Rosaceae (около 60–65%). Одновременно семенам данного типа принадлежит основная роль в создании запасов почвенного банка. Вероятно, такие семена более приспособлены для сохранения в почве и выполнения функции резервной части популяции. Немногочисленны в почвенном запасе семена с запасными веществами в зародыше (семейство Cruciferae) и семена с периспермом (семейства Chenopodiaceae, Caryophyllaceae).

По типам покоя преобладающее большинство семян рассмотренных видов характеризуется наличием эндогенного неглубокого физиологического покоя (*Achillea millefolium*, *Barbarea vulgaris*, *Dactylis glomerata*, *Galium mollugo*, *Oenothera biennis*, *Plantago major* и т.д.), который может быть снят действием многих факторов, чаще всего – влиянием переменной температуры. Немногочисленны семена с экзогенным (*Rubus caesius*), эндогенным промежуточным (*Chenopodium album*, *Filipendula ulmaria*, *Veronica beccabunga*), эндогенным глубоким (*Rhinanthus minor*), эндогенным морфофизиологическим (*Caltha palustris*, *Ranunculus sceleratus*, *Veronica longifolia*) и комбинированным (*Prunella vulgaris*) покоем. Семенам данного типа принадлежит основная роль в

создании запасов почвенного банка. Вероятно, такие семена более приспособлены для сохранения в почве и выполнения функции резервной части популяции. Менее многочисленны в почвенном запасе семена с запасными веществами в зародыше из семейства Cruciferae и семена с периспермом (из семейств Chenopodiaceae и Caryophyllaceae).

При анализе типов зародышей семян установлено, что в семенном банке преобладающее большинство семян характеризуется прямым зародышем, семена с другими типами зародышей немногочисленны.

Таким образом, функционирование банка семян, реализация его потенциальных возможностей, помимо факторов внешней среды, во многом определяется биологией семян.

Наблюдения за процессами прорастания семян в лабораторных условиях показали, что основная масса семян из почвенного банка всех исследованных фитоценозов прорастает в 1–4-ю неделю после начала эксперимента. За это время из состояния покоя выходит от 65 до 95% всхожих семян. Максимальное видовое разнообразие прорастающих семян также зарегистрировано в первые недели наблюдения, которое постепенно снижается к концу эксперимента, когда прорастают единичные семена.

Исследования в течение нескольких лет в лесных фитоценозах позволили определить общие тенденции прорастания семян, наиболее многочисленных в почвенном запасе. При прорастании семян одного и того же вида в разные годы не удалось выявить однозначной, четкой картины. Описано большое разнообразие темпов прорастания, что может быть обусловлено спецификой формирования семян на материнском растении в зависимости от условий, напряженностью аллелопатического фона, воздействием антропогенного фактора. Поэтому можно говорить лишь об общих тенденциях прорастания семян и выделить три группы видов: виды I группы характеризуются прорастанием в течение всего времени эксперимента с максимум появления всходов на 2–4-й неделе (*Ranunculus repens*, *Stellaria holostea* и др.); виды II группы прорастают в основном в первые 5 недель эксперимента (*Chenopodium album*); для III группы свойственна неравномерность прорастания семян (*Plantago major*).

У многих растений видовая специфика в отношении прорастания семян по сезонам оказалась не выраженной или слабо выраженной. Однако некоторые виды довольно специфич-



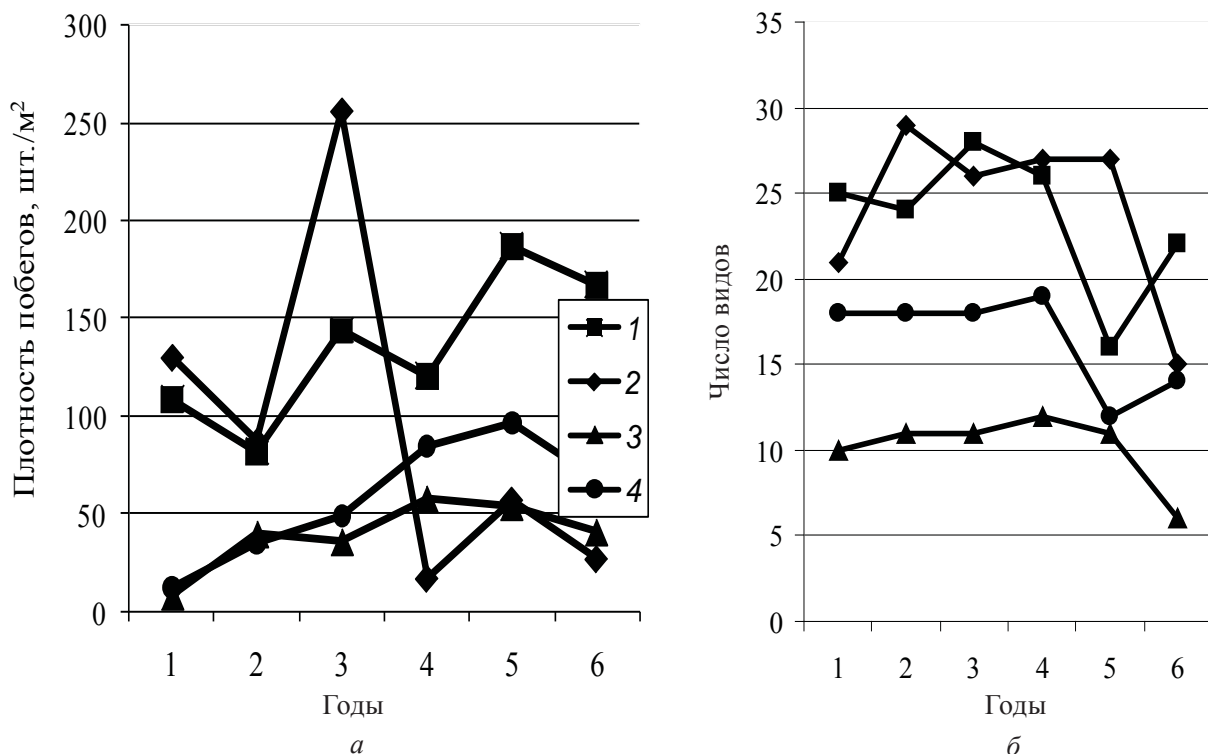
ны. Так, в основной массе на второй сезон эксперимента прорастают семена *Barbarea vulgaris*, *Chenopodium album*, *Chrysosplenium alternifolium*, *Deschampsia caespitosa*, *Glechoma hederacea*, *Phleum pratense*, *Ranunculus repens*, *Stellaria media*.

Реализация почвенного банка семян в естественных условиях имеет несколько особенностей, так как любой вид растений представляет собой обособленное поселение, способное устойчиво, длительное время воспроизводиться в пределах освоенной территории. Эта адаптация выработалась путем естественного отбора, причем у однолетних растений при снижении жизнедеятельности происходит ускорение развития, у многолетников наиболее целесообразно задержать развитие до наступления благоприятных условий среды. Такая «стратегия жизни» необходима для приспособления растений к произрастанию в условиях сообщества.

Семена различных видов растений характеризуются определенной динамикой прорас-

тания, что зависит от их видовой специфичности относительно жизненной стратегии. Виды растений, которые прорастут в данный сезон, определяются комплексом механизмов покоя и потенциальными возможностями среды, создающей благоприятные для прорастания условия. При этом каждый вид предъявляет особые требования к количеству любого из экологических факторов. Эти факторы играют роль отбирающего фактора, от которого зависит прорастание одних видов и непрорастание других.

Сравнение видового состава всходов (т.е. реализованной части почвенного банка семян) с видовым составом семенного банка (потенциально активной части) проводилось для сообществ на песчаных, супесчаных и суглинистых почвах. В исследованных фитоценозах в разные годы исследования был зарегистрирован различный качественный и количественный состав семян. Динамика изменения числа всходов и видов по годам исследования отражена на рисунке.



Динамика прорастания семян в лесных сообществах по количественному составу (а) и по качественному составу (б): 1 – сосняки на песчаных почвах; 2 – дубравы на песчаных почвах; 3 – дубравы на супесчаных почвах; 4 – липняки на суглинистых почвах

Наибольшая численность семян в сообществах на песчаных почвах отмечена на третий год исследования, а наименьшая – на четвертый (см. рисунок, а). В фитоценозах на суглинистых

и супесчаных почвах максимальное число всходов наблюдается на пятый год исследования, а минимальное – на шестой. По-видимому, существует стабилизирующий механизм, который



препятствует неограниченному накоплению жизнеспособных семян в почве. И этот механизм характерен для популяций любого вида растений.

Накопление семян в почве обеспечивается их способностью находиться в состоянии покоя какое-либо время, что позволяет растениям пережить неблагоприятные условия среды и прорасти в определенное время. Очевидно, в некоторые годы складывается определенная комбинация концентраций экологических факторов, наиболее благоприятная для прорастания большинства семян, встречающихся в семенном банке. В связи со значительным оттоком семян из почвенного запаса вследствие прорастания, в последующие годы отмечается резкое уменьшение количества появившихся всходов.

В каждом сообществе число видов растений, давших проростки, изменяется каждый год (см. рисунок, б). При этом неодинаков и видовой состав проростков. Практически во все годы исследования наблюдается малое число всходов древесных пород (*Acer platanoides*, *Tilia cordata*, *Populus tremula*, *Quercus robur* и *Ulmus glabra*), у большинства из которых эволюционным приспособлением для увеличения вероятности семенного размножения является прорастание свежееосыпавшихся семян, так как для семян древесных пород в стратегию жизни не входит длительный период покоя. Особенно массовое число всходов наблюдается в семенные годы или на следующий год после семенного. Семена же *Betula pendula* встречаются в почве практически каждый год в значительном количестве.

Максимальным числом проросших семян травянистых растений в сообществах на песчаных почвах представлены *Calamagrostis epigeios*, *Carex supina*, немного меньшим – *Brachipodium pinnatum*, *Poa angustifolia*, *P. nemoralis*, *Trifolium medium*, *Chenopodium album*, *Verbascum orientale* и др. Основная часть этих растений относится к видам, свойственным открытым и полукрытым местообитаниям. Такие виды, как *Calamagrostis epigeios*, *Carex supina* и *Poa angustifolia* характеризуются значительным числом всходов практически во все годы исследования. Наибольшей плотностью побегов в сообществах на суглинистых и супесчаных почвах характеризуются *Aegopodium podagraria*, *Carex muricata*, *C. pilosa*, *C. sylvatica*, *Convallaria majalis*, *Lathyrus vernus*, и *Stellaria holostea*. Это типично лесные растения, взрослые особи которых цветут и плодоносят в данном лесном сообществе.

В изученных сообществах было обнаружено, что исключительно в первый год прорастают семена *Turritis glabra*, *Fallopia convolvulus*, *Betula pendula*, *Rubus idaeus*, *Chenopodium album*, *Vicia tenuifolia* *Anemonoides ranunculoides*, во второй год – *Bromopsis inermis*, *Lathyrus vernus*, *Epipactis atrorubens*, *E. helleborine*, *Anemone sylvestris*, *Securigera varia*, *Chamaecynisus ruthenicus*, *Euphorbia semivillosa*, *Hieracium pilosella*. На третий год были обнаружены семена *Galium verum*, *Tilia cordata*, *Carex pilosa*, *Melica nutans* и *Veronica chamaedrys*, а на четвертый год наблюдались всходы таких видов, как *Phleum phleoides*, *Amoria montana*, *Quercus robur*. На шестой год опыта встречаются всходы *Solidago virgaurea* и *Ajuga genevensis*. На седьмом году опыта появляются всходы *Urtica urens* и *Vicia cracca*. Следует отметить также, что семена *Rubus saxatilis* и *Populus tremula* проросли в первый и третий год эксперимента, семена *Eunonymus verrucosa* – во второй, третий и шестой, *Viola mirabilis* и *Millium effusum* – третий и шестой, *Poa nemoralis* – третий и седьмой, *Carex muricata* – четвертый и шестой. Данное явление можно объяснить несколькими причинами. Во-первых, прорастание семян в разные годы определяется видовыми особенностями семян. Так, у одного вида растений могут существовать различные по периоду покоя семена. Это касается многих сорных растений. Во-вторых, в разные годы отмечается неодинаковое сочетание интенсивности экологических факторов, т.е. в сообществах наблюдаются временно благоприятные периоды для прорастания семян каждого из видов растений.

Следовательно, функционирование банка семян в лесных сообществах определяется семенной продукцией растений, вегетирующих в фитоценозе, экологическими условиями, местоположением фитоценоза, историей его развития, степенью нарушенности и влиянием антропогенного фактора. Семенной банк изменяется с каждым годом, так как с течением времени меняется и само сообщество, то есть формирование почвенного запаса жизнеспособных семян зависит и от трансформации фитоценозов. Изменения в составе семенного банка в значительной мере определяют смену растительных сообществ, будущее их состояние, так как банк семян в большей степени влияет на состав последующих фитоценозов, особенно при различного рода воздействиях. Таким образом, банк семян можно определить как подсистему биогеоэкологического уровня,



элементы которой (семена) находятся в почве и сохраняют жизнеспособность в течение ряда лет, обеспечивая самоподдержание ценопопуляции и сообществ. Процессы функционирования банка семян происходят при тесном взаимодействии с остальными компонентами биогеоценоза: экотопом и биоценозом. Для каждого лесного фитоценоза содержание всхожих семян в почве лимитируется сочетанием ряда факторов, определяющих их жизнеспособность и возможность прорастания: особенностями биологии семян (наличие или отсутствие периода органического покоя, характер их прорастания), масштабами семенной продуктивности растений, а также соотношением способов их размножения, близостью источников поступления заносных семян, а также историей формирования фитоценоза.

### Список литературы

1. *Работнов Т. А.* Изучение ценологических популяций в целях выяснения «стратегии жизни» видов растений // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1975. Т. 809, вып. 2. С. 5–16.
2. *Петров В. В., Груздева Л. П.* Почвенный запас семян в лесных фитоценозах (обзор литературы) // Экология и физиология растений. Калинин, 1974. Вып. 1. С. 80–94.
3. *Болдырев В. А., Торгашкова О. Н.* Жизнеспособные семена в почвах некоторых лесных фитоценозов Саратовского Правобережья // Лесное хозяйство Поволжья. Саратов, 1996. С. 49–55.
4. *Торгашкова О. Н.* Основные закономерности формирования и реализации банка семян в лесах Саратовского Правобережья // Бюл. Ботсада Саратов. гос. ун-та. Саратов, 2003. Вып. 2. С. 60–67.
5. Функциональная структура почвенных банков семян лесных фитоценозов Саратовского Правобережья // Биоразнообразие и охрана природы в Саратовской области : в 4 кн. Кн. 3. Растительность / В. А. Болдырев, С. А. Невский, О. Н. Давиденко и др. ; под общ. ред. проф. В. А. Болдырева, проф. Г. В. Шляхтина. Саратов, 2011. С. 241–228.
6. *Петров В. В.* Банк семян в почвах лесных фитоценозов европейской части СССР. М., 1989. 176с.
7. *Маевский П. Ф.* Флора средней полосы Европейской части СССР. М., 2006. 600 с.
8. *Черепанов С. К.* Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб., 1995. 992 с.
9. *Николаева М. Г.* Физиология глубокого покоя семян. Л., 1967. 203 с.
10. *Николаева М. Г.* Классификация типов органического покоя семян // Вопросы биологии семенного размножения. Ульяновск, 1968. Т. XXIII, вып. 3. С. 143–159.
11. *Николаева М. Г., Разумова М. В., Гладкова В. Н.* Справочник по проращиванию покоящихся семян. М., 1985. 346 с.



## ЭКОЛОГИЯ

УДК 574.472

### ЭКОЛОГО-ФАУНИСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЖЕСТКОКРЫЛЫХ (INSECTA: COLEOPTERA) ПЕРЕХОДНОЙ ЗОНЫ «ВОДА–СУША» ПОЙМЕННЫХ ОЗЕР р. ВОЛГИ ЭНГЕЛЬССКОГО РАЙОНА САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

А. С. Сажнев

Саратовский государственный университет  
E-mail: sazh@list.ru

В статье приведены результаты исследования прибрежной фауны жесткокрылых экотонных биоценозов (озер и временных водоемов) окрестностей города Энгельса. Дается краткое описание исследованных биотопов. Представлен фаунистический список – 101 вид жесткокрылых из 14 семейств. Виды изученных колеоптерокомплексов разделены на экологические группы, по гумидному градиенту и трофическим связям.

**Ключевые слова:** прибрежные жесткокрылые, фауна, Саратовская область, река Волга, озера.

**Ecological and Faunistic Data of Beetles (Insecta: Coleoptera) Costal Area of Floodplain Lakes of Volga River of Engel'ssky District (Saratov Region)**

A. S. Sazhnev

The article contains the results of the coastal beetles research (floodplain lakes of Volga river Engel'ssky district Saratov region). There is also a brief description of the investigated biotope. List of 101 species of beetles is presented. The representatives of investigated set of beetles are divided into ecological groups, humid gradient and food chains.

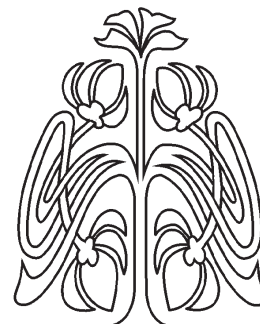
**Key words:** coastal beetles, fauna, Saratov Area, river Volga, lakes.

#### Введение

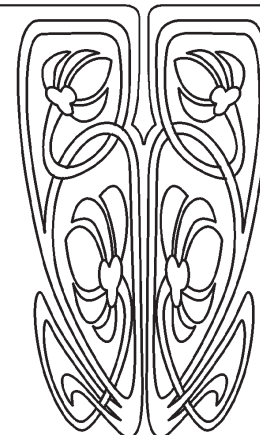
Установление фаунистического состава насекомых прибрежных территорий на сегодняшний день является малоизученной и актуальной проблемой. Жесткокрылые как объект исследования занимают особое место, так как они освоили практически все экологические ниши, являются неотъемлемой частью трофических систем, играют значительную роль в переносе энергии и вещества. Однако, несмотря на двухсотлетнюю историю изучения энтомофауны на территории Нижнего Поволжья, в настоящее время экологические аспекты изучения жесткокрылых насекомых Саратовской области остаются фрагментарными.

#### Материалы и методы

Результатами для настоящей статьи послужили энтомологические исследования, проведенные автором на территории Энгельсского района Саратовской области в 2012–2013 гг. Были изучены пой-



НАУЧНЫЙ  
ОТДЕЛ





менные озера и временные водоемы близ поселка Лесной – окрестности г. Энгельса, левый берег Волги. Для данной территории известно более 250 видов жесткокрылых насекомых из 47 семейств (по собственным и литературным данным [1], но прибрежная фауна изучена слабо. Нами были рассмотрены колеоптерокомплексы переходной зоны «вода–суша», занимающие ключевое место в водных экосистемах.

Древесная растительность около исследуемых водных объектов представлена тополем чёрным (*Populus nigra* L.), ольхой клейкой (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.), различными видами ив (*Salix* spp.), берёзой повислой (*Betula pendula* Roth.), клёном татарским (*Acer tataricum* L.). В подлеске доминирует подрост тополя черного, довольно обильно встречается бересклет бородавчатый (*Euonymus verrucosa* Scop.). Многие древесные ассоциации являются искусственными насаждениями. В прибрежной части, в местах взятия проб, преобладают рогоз (*Typha* sp.), тростник обыкновенный (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.), осоки (*Carex* sp.), сусак зонтичный (*Butomus umbellatus* L.). Плавающая и погруженная в воду растительность представлена рдестовыми и роголистниковыми ассоциациями.

Имаго жесткокрылых собирались общепринятыми методиками: ручной сбор и сбор при помощи эксгаустера, кошение водным энтомологическим сачком, выплескивание, установка ловушек по типу «вирши» для водных объектов, а также использование почвенных ловушек для герпетобионтов. Глубина водоемов в местах сбора материала колеблется от 0,1 до 0,5 м. Берега у всех исследованных водных объектов пологие. Грунт в основном илисто-песчаный с примесью растительных остатков. Дно ряда временных водоемов, находящихся в понижении рельефа среди древостоя, густо покрыто листовым опадом. Места исследований находятся вблизи населенных пунктов, их можно охарактеризовать как рекреационную зону с существенной антропогенной нагрузкой.

Ниже приводится список обнаруженных в прибрежной зоне видов (семейства выделены полужирным шрифтом).

**Dytiscidae:** *Acilius canaliculatus* (Nicolai, 1822), *A. sulcatus* (Linné, 1758), *Agabus fuscipennis* (Paykull, 1798), *A. labiatus* (Brahm, 1790), *A. uliginosus* (Linné, 1761), *A. undulatus* (Schrank, 1776), *Colymbetes fuscus* (Linné, 1758), *C. striatus* (Linné, 1758), *Cybister lateralimarginalis* (De-

Geer, 1774), *Dytiscus circumflexus* Fabricius, 1801, *Graphoderus cinereus* (Linné, 1758), *Graptodytes bilineatus* (Sturm, 1835), *Hydaticus seminiger* (DeGeer, 1774), *Hydroporus angustatus* Sturm, 1835, *H. discretus* Fairmaire & Brisout, 1859, *H. fuscipennis* Schaum, 1868, *H. palustris* (Linné, 1761), *Hygrotus decoratus* (Gyllenhal, 1810), *H. impressopunctatus* (Schaller, 1783), *H. marklini* (Gyllenhal, 1813), *Hyphydrus ovatus* (Linné, 1761), *Liopterus haemorrhoidalis* (Fabricius, 1787), *Rhantus bistriatus* (Bergsträsser, 1778), *Rh. frontalis* (Marsham, 1802), *R. latitans* Sharp, 1880, *R. suturalis* (MacLeay, 1825), *Suphrodytes dorsalis* (Fabricius, 1787); **Haliplidae:** *Peltodytes caesus* (Duftschmidt, 1805); **Carabidae:** *Acupalpus exiguus* Dejean, 1829, *Agonum duftschmidii* Schmidt, 1994, *Anthracus consputus* (Duftschmidt, 1812), *Bembidion articulatum* (Panzer, 1796), *B. assimile* Gyllenhal, 1810, *B. biguttatum* (Fabricius, 1779), *B. dentellum* (Thunberg, 1787), *B. minimum* Fabricius, 1792, *B. octomaculatum* (Göze, 1777), *B. varium* Olivier, 1795, *Calathus halensis* Schaller, 1783, *Chlaenius tristis* (Schaller, 1783), *Harpalus distinguendus* Duftschmid, 1812, *H. rufipes* De Geer, 1774, *Oodes helopioides* (Fabricius, 1792), *Pterostichus melanarius* Illiger, 1798, *P. oblongopunctatus* (Fabricius, 1787); **Hydraenidae:** *Hydraena palustris* Erichson, 1837, *Limnebius aluta* Bedel, 1881, *L. crinifer* Rey, 1885, *Ochthebius minimus* (Fabricius, 1792); **Hydrophilidae:** *Anacaena lutescens* (Stephens, 1829), *Berosus luridus* (Linné, 1761), *B. signaticollis* Charpentier, 1825, *Cercyon bifenestratus* Küster, 1851, *C. marinus* Thomson, 1853, *Chaetarthria seminulum* (Herbst, 1797), *Coelostoma orbiculare* (Fabricius 1775), *Cymbiodyta marginella* (Fabricius, 1792), *Enochrus affinis* (Thunberg, 1794), *E. bicolor* (Fabricius, 1792), *E. quadripunctatus* (Herbst, 1797), *E. testaceus* (Fabricius, 1801), *Hydrobius fuscipes* Linné, 1758, *Hydrochara caraboides* (Linné, 1758); **Helophoridae:** *Helophorus brevivalpis* Bedel, 1881; **Georissidae:** *Georissus crenulatus* (Rossi, 1794); **Silphidae:** *Silpha carinata* Herbst, 1783; **Staphylinidae:** *Aleochara curtula* (Göze, 1777), *Amischa analis* (Gravenhorst, 1802), *Carpelimus bilineatus* Stephens, 1834, *C. lindrothi* (Palm, 1943), *C. corticinus* (Gravenhorst, 1806), *Erichsonius cinerascens* (Gravenhorst, 1802), *Falagria sulcatula* (Gravenhorst, 1806), *Hygromoma dimidiata* (Gravenhorst, 1806), *Lathrobium longulum* Gravenhorst, 1802, *Myllaena intermedia* Erichson, 1839, *M. kraatzi* Sharp, 1871, *Ochtheophilum collare* (Reitter, 1884), *Olophrum assimile*





(Paykull, 1800), *Paederus littoralis* Gravenhorst, 1802, *Paragabrius micantoides* (Benick & Lohse, 1956), *Philonthus atratus* (Gravenhorst, 1802), *Ph. quisquiliarius* (Gyllenhal, 1810), *Ph. umbratilis* (Gravenhorst, 1802), *Platystethus nitens* (Sahlberg, 1832), *Pseudomedon obsoletus* (Nordmann, 1837), *Stenus argus* Gravenhorst, 1806, *Tetartopeus quadratus* (Paykull, 1789), *Tetartopeus terminatus* (Gravenhorst, 1802); **Dryopidae:** *Dryops auriculatus* (Geoffroy, 1785), *D. griseus* (Erichson, 1847); **Heteroceridae:** *Heterocerus fenestratus* (Thunberg, 1784), *H. fuscus* Kiesen-

wetter, 1843, *H. obsoletus* Curtis, 1828; **Scirtidae:** *Cyphon padi* (Linné, 1758), *C. variabilis* (Thunberg, 1787), *Scirtes hemisphaericus* (Linné, 1767); **Chrysomelidae:** *Cryptocephalus octacosmus* Bedel, 1891, *Plateumaris braccata* (Scopoli, 1772); **Curculionidae:** *Dorytomus tremulae* (Fabricius, 1787), *Otiorynchus ovatus* (Linné, 1758).

Всего был выявлен 101 вид из 14 семейств, наиболее многочисленными оказались семейства Dytiscidae, Staphylinidae, Carabidae, Hydrophilidae. Процентное распределение видов по семействам представлено на диаграмме (рис. 1).

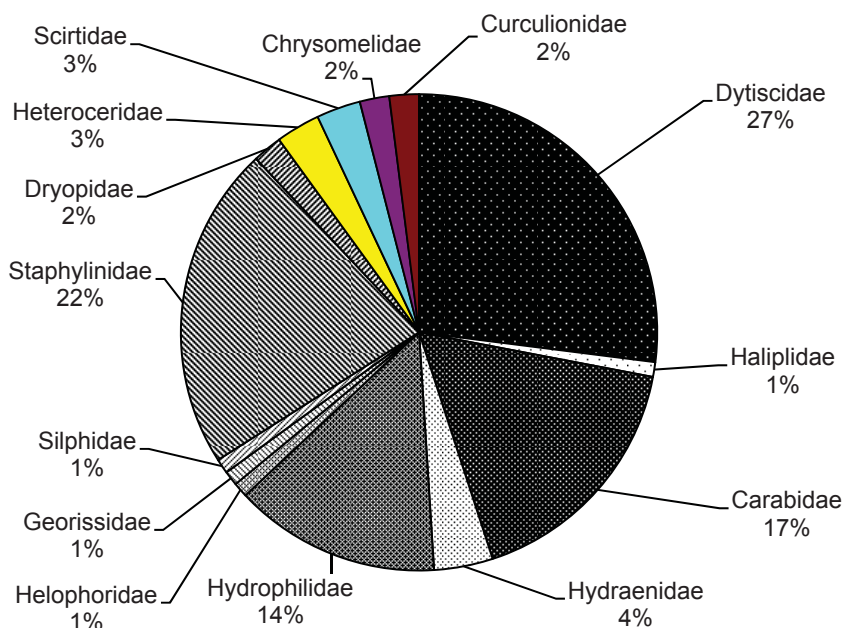


Рис. 1. Процентное распределение обнаруженных видов жесткокрылых по семействам

По ряду критериев: 1) времени, проводимом в контакте с водой; 2) степени погружения; 3) степени зависимости от воды; 4) мотивации контакта с водой (пища, убежище и др.) были выделены, а позже дополнены экологические группы водных жесткокрылых [2]. Отмеченные нами виды согласно этой классификации делятся на следующие группы и подгруппы:

**1. Настоящие водные жуки** (46 видов) – Dytiscidae, большинство Hydrophilidae, Hydraenidae, Helophoridae, Haliplidae, Dryopidae;

**2. Амфибиотические жесткокрылые** (4 вида):

- а) настоящие амфибиоты – Scyrtidae;
- б) фитофильные виды – *Plateumaris braccata*;

**3. Полуводные жесткокрылые** (7 видов): прибрежные виды – Georissidae, Heteroceridae,

*Cercyon bifenestratus*, *C. marinus*, *Chaetarthria seminulum*;

**4. Факультативные водные жуки** (31 вид) – в эту группу нами были включены виды, активно погружающиеся или передвигающиеся по поверхности воды ограниченный период времени для охоты, питания, укрытия от врагов, однако надо заметить, что информации о биологии многих из них недостаточно, это большинство прибрежных Carabidae, Staphylinidae.

Также были встречены эвритопные виды, к водным объектам прямого отношения не имеющие, но неоднократно встречающиеся на берегу: *Aleochara curtula*, *Calathus halensis*, *Harpalus distinguendus*, *H. rufipes*, *Oodes helopioides*, *Pterostichus melanarius*, *P. oblongopunctatus*, *Aleochara curtula*, *Platystethus nitens*, *Tachyporus nitidulus*, *Silpha carinata*,



*Cryptocephalus octacosmus*, *Dorytomus tremulae*, *Otiorhynchus ovatus*.

По гумидному градиенту отмеченные жесткокрылые распределены следующим образом: гидрофилы – все Dytiscidae, Hydrophilidae, Hydraenidae, Helophoridae, Haliplidae, Dryopidae (49 видов), гигрофилы – Heteroceridae, Georissidae, а также амфибионты – Scirtidae и *Plateumaris braccata* (8 видов); к мезогигрофилам мы

отнесли большинство Carabidae, Staphylinidae (31 вид), мезофилы – *Calathus halensis*, *Oodes helopioides*, *Pterostichus melanarius*, *P. oblongopunctatus*, *Aleochara curtula*, *Platystethus nitens*, *Tachyporus nitidulus*, *Silpha carinata*, *Cryptocephalus octacosmus*, *Dorytomus tremulae* и мезоксерофилы – *Harpalus distinguendus*, *H. rufipes*, *Otiorhynchus ovatus*. Распределение наглядно представлено на гистограмме (рис. 2).

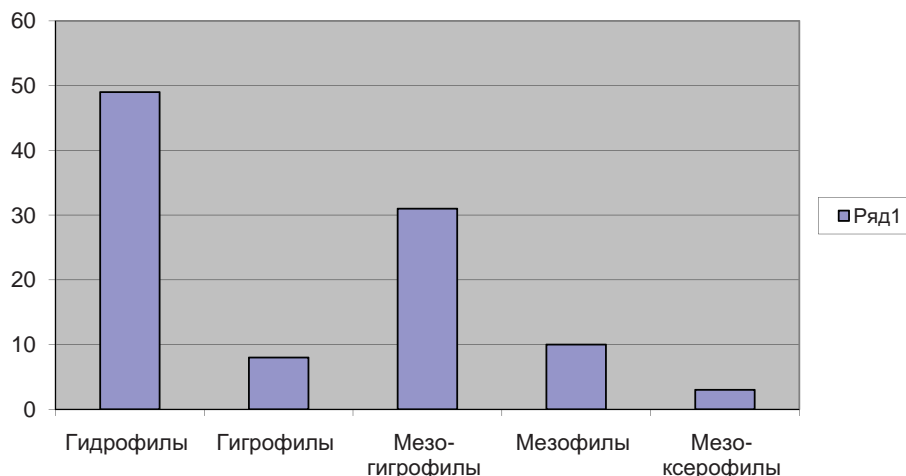


Рис. 2. Распределение отмеченных в районе исследований видов жесткокрылых по гумидному градиенту

Трофические связи жесткокрылых очень разнообразны, жуки едят практически все вещества органического происхождения, и довольно сложно выяснить спектр питания, не являющихся зоофагами видов. Среди имаго жесткокрылых, обнаруженных нами на модельных участках, выделено 3 трофических группы.

1. Зоофаги – все Dytiscidae, Carabidae (*Harpalus distinguendus* и *H. rufipes* можно отнести к миксофитофагам), некоторые Staphylinidae: *Aleochara curtula*, *Erichsonius cinerascens*, *Paederus littoralis*, *Paragabrius micantoides*, *Philonthus atratus*, *Ph. quisquiliarius*, *Ph. umbratilis*, *Pseudomedon obsoletus*, *Stenus argus*, *Tetartopeus quadratus*, *T. terminatus*.

2. Сапрофаги – Hydrophilidae (включая детритофагов *Cercyon bifenestratus*, *C. marinus*, *Chaetarthria seminulum*, *Coelostoma orbiculare*), Hydraenidae, Helophoridae, Georissidae, Heteroceridae, Staphylinidae: *Amischa analis*, *Carpelmus bilineatus*, *C. lindrothi*, *C. corticinus*, *Falagria sulcatula*, *Hygronoma dimidiata*, *Lathrobium longulum*, *Myllaena intermedia*, *M. kraatzi*, *Ochtheophilum collare*, *Olophrum assimile*, Silphidae. Большинство представителей этой группы яв-

ляются сапрофитофагами и совмещают питание растениями (водорослями, водяными мхами) и разлагающимися органическими остатками (в основном растительного происхождения).

3. Фитофаги (включая альгофагов) – Haliplidae, *Hydrochara caraboides*, *Dryopidae*, Scirtidae, Chrysomelidae, Curculionidae.

Процентное соотношение отмеченных в районе исследования жесткокрылых по трофическим группам смотрите на диаграмме (рис. 3).

### Выводы

На исследуемой территории выявлен 101 вид из 14 семейств жесткокрылых, наибольшее видовое разнообразие отмечено для семейств Dytiscidae – 27 видов, Staphylinidae – 23 вида, Carabidae – 17 видов, Hydrophilidae – 14 видов, остальные семейства представлены незначительно (1–4 вида), 14 видов из разных семейств прямого отношения к водным объектам не имеют и являются эвритопными.

Среди жесткокрылых, экологически связанных с водой, преобладает группа настоящих водных жуков – 52% (за счет Dytiscidae, Hydrophilidae), на втором месте стоит группа

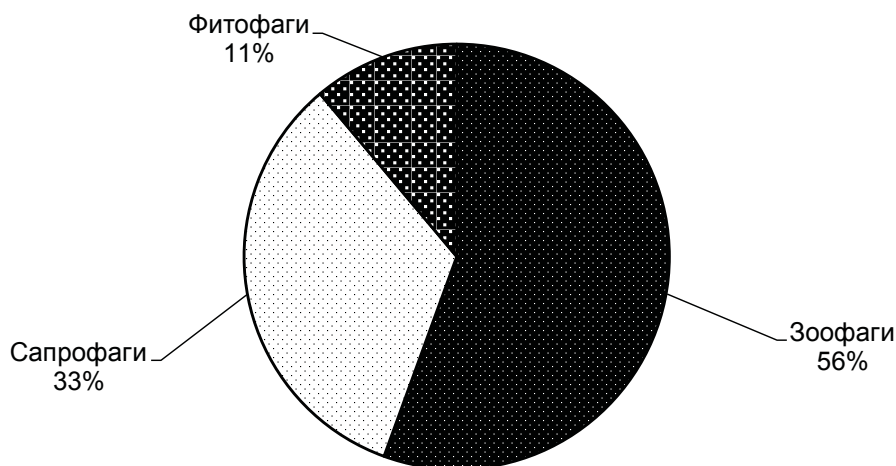


Рис. 3. Процентное соотношение отмеченных в районе исследований видов жесткокрылых по трофическим группам

факультативных водных жуков – это характерные представители прибрежных активно передвигающихся Carabidae, Staphylinidae – 35%, интерстациальные виды (*Georissus crenulatus*, *Heterocerus fenestratus*, *H. fuscus*, *H. obsoletus*, *Cercyon bifenestratus*, *C. marinus*, *Chaetarthria seminulum*, *Coelostoma orbiculare*), характерные для маргинальной зоны экотона «вода–суша» образуют группу полуводных жуков – 8%, амфибионты составляют 5% от всех видов.

По гумидному градиенту преобладают гидрофилы (в целом благодаря большому числу видов среди Dytiscidae), однако, если выделить водный и наземный комплексы жесткокрылых, то показатели выравниваются, и соотношение между видами – обитателями водной среды и наземными околоводными видами (гигро- и мезогигрофилами) приближается к единице. Надо учитывать, что мезофилы тяготеют к берегам водоемов в летние и засушливые периоды, поэтому их наличие на исследуемой территории обоснованно. Выявленные мезоксерофильные виды были встречены весной, почти все они эвритопны.

Относительно питания было выделено 3 трофических группы, преобладают зоофаги (56%), которые представлены как водными (Dytiscidae), так и наземными (Carabidae, часть Staphylinidae) хищниками. Вторая по обилию группа – это сапрофаги (33%). Благоприятные условия для накопления детрита на границе двух сред привлекают специализированные группы организмов, при этом часть из них не связана с водными объектами, в частности, фитофагов в сборах оказалось 11%.

#### Список литературы

1. *Забалуев И. А.* К фауне жесткокрылых (Insecta, Coleoptera) окрестностей города Энгельса Саратовской области : аннотированный список видов // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье : сб. науч. тр. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2010. Вып. 8. С. 27–36.
2. *Прокин А. А.* Водные жесткокрылые (Coleoptera) малых рек Европейской части России : разнообразие, биоценотическая и индикационная роль // Экосистемы малых рек : биоразнообразие, экология, охрана. Ярославль : ООО «Ярославский печатный двор», 2008. С. 38–53.



УДК 574

## БИОЦЕНОТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ РАСТИТЕЛЬНОСТИ ФЕДЕРАЛЬНОГО ЗАКАЗНИКА «САРАТОВСКИЙ»

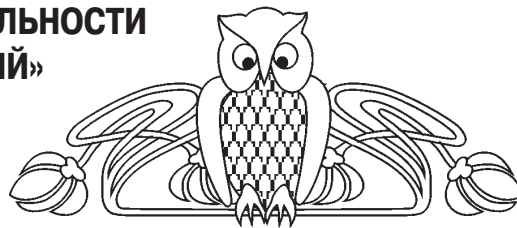
О. Н. Давиденко, Л. А. Серова<sup>1</sup>,  
С. А. Невский, Т. Н. Давиденко

Саратовский государственный университет

E-mail: biosovet@sgu.ru

<sup>1</sup>Национальный парк «Хвалынский»

E-mail: laserova78@gmail.com



В статье приведены результаты детального изучения растительности заказника «Саратовский». Оценена структура фитоценозов, природоохранный статус территории и биоценотический потенциал ее растительности. Дана характеристика ценопопуляций редких видов растений.

**Ключевые слова:** заказник «Саратовский», степная растительность, Саратовская область.

### The Vegetation Biocoenotic Potential in «Saratovskiy» Wildlife Sanctuary

O. N. Davidenko, L. A. Serova,  
S. A. Nevskiy, T. N. Davidenko

The article is devoted to the detailed investigation of steppe vegetation communities in wildlife sanctuary «Saratovskiy». Community structure, conservation status and vegetation biocoenotic potential are estimated. The population character of rare plants species is performed.

**Key words:** wildlife sanctuary «Saratovskiy», steppe vegetation, Saratov region.

На территории Саратовской области расположены 2 особо охраняемые природные территории (ООПТ) федерального значения, 79 ООПТ регионального значения и 7 ООПТ местного значения [1]. Растительность особо охраняемых природных территорий области остается малоизученной. Отдельными геоботаническими исследованиями охвачены лишь некоторые из них. В книге «Особо охраняемые природные территории Саратовской области» [2], являющейся наиболее полной сводкой по ООПТ, даже для ботанических памятников природы отсутствует информация, отражающая современное состояние и динамику растительности, состояние ценопопуляций редких видов растений. В связи с этим встает вопрос о необходимости комплексных геоботанических, экологических и ценопопуляционных исследований с использованием современных способов обработки и представления данных. Подобная работа была начата авторами в рамках комплексных исследований растительности Саратовской

области с 2007 г. Поскольку заказник «Саратовский» является особо охраняемой природной территорией федерального значения, ему уделялось особое внимание.

Заказник «Саратовский» расположен на территории Федоровского района Саратовской области в верхнем течении реки Еруслан. Он был создан с целью охраны, воспроизводства ценных видов животных (в первую очередь дрофы и стрепета) и сохранения среды их обитания на территории области. Площадь заказника составляет 44302 га; в числе заявленных задач значится охрана природного ландшафта, редких и ценных видов растений [1]. В связи с несомненной ценностью данного участка с точки зрения сохранения биоразнообразия региона актуальным является проведение детальных исследований его компонентов.

Целью данной работы было комплексное изучение растительности заказника «Саратовский» с последующей оценкой его биоценотического потенциала. Исследования проводились в 2009–2012 гг. Растительность изучалась на маршрутах и на постоянных пробных площадях по стандартной методике [3, 4].

Для изучения почвы закладывались почвенные разрезы с последующим описанием основных морфологических признаков почв [5].

Показатель биоценотического потенциала рассчитывался с учетом трех составляющих: состояние фитоценозов, структурное разнообразие, природоохранный статус [6–8]. Первая составляющая характеризует степень сохранности среды, вторая – структуру местообитаний, третья показывает целесообразность введения специальных мер охраны. За основу была взята методика оценки биоценотического потенциала лесного биогеоценоза [6] с изменениями [9], с учетом специфики степной растительности. Индекс состояния растительности оценивался исходя из доли площадей разной степени фи-



тоценотической сформированности в пределах изученного участка по формуле

$$I_s = \sum Q_i f_i,$$

где  $Q_i$  – доля суммы площадей с разным уровнем нарушенности от общей площади участка, %;  $f_i$  – коэффициенты нарушенности.

Индекс структурного разнообразия рассчитывали по формуле Бриллюэна [10], в которую вместо численных оценок видов и особей подставляли результаты балльной оценки выраженности отдельных структурных параметров степной растительности:

$$H_{str} = -\frac{1}{M} \ln \frac{m_1! m_2! m_3! \dots m_l!}{M!},$$

где  $m_i$  – значение  $i$ -го элемента структурного разнообразия в баллах;  $M$  – суммарная оценка в баллах по всем структурным элементам сообщества.

Общий коэффициент природоохранной значимости вычислялся по формуле

$$R = r_1^i + r_2^i + r_3^i + r_4^i,$$

где  $r_1, r_2, r_3, r_4$  – соответствующие коэффициенты значимости по категориям статуса видов в соответствии с Красной книгой Саратовской области [11];  $i$  – число обнаруженных редких видов по категориям статуса [6].

Показатель обобщенного биоценотического потенциала вычислялся по формуле:

$$I_p = I_s \times I_{str} \times R,$$

где  $R$  – коэффициент природоохранной значимости;  $I_s$  – индекс состояния фитоценоза;  $I_{str}$  – индекс структурного разнообразия сообщества.

На основании количественной оценки параметров сообществ заказника (табл. 1) проведены расчеты состояния растительности, структурной сложности сообществ и их природоохранного статуса. Первые два показателя оценивались для каждой группы фитоценозов с последующим усреднением, а последний – для всего участка в целом.

Таблица 1

Количественные значения параметров оценки биоценотического потенциала

Параметр	Значение параметра на изученном участке	Балльная оценка/коэффициент пересчета
Состояние сообщества		
Доля лишенных растительности участков, %	3	0,2
Доля участков средней фитоценотической сформированности, %	10	0,7
Доля участков высокой фитоценотической сформированности, %	87	1
Структурные параметры		
Число видов сосудистых растений, шт.	до 10	0
	10–20	1
	более 20	2
Наличие степного войлока	нет	0
	местами есть	1
	есть	2
Общее проективное покрытие, %	10–30	1
	30–60	2
	60–80	3
	более 80	4
Количество вертикальных ярусов, шт.	1	1
	2	2
	3	3
Природоохранная значимость		
Число видов, находящихся под угрозой исчезновения, шт.	3	2,0
Число уязвимых видов, шт.	3	1,8
Число редких видов, шт.	0	1,6
Число видов с неопределенным статусом, шт.	0	1,4



Как показали исследования, естественная растительность заказника «Саратовский» представляет собой вариант сочетания нескольких растительных сообществ, преимущественно на каштановых типичных, светло-каштановых солонцеватых почвах и солонцах.

Естественная степная и галофитная растительность представлена десятью основными ассоциациями: перистоковыльной, типчаково-тырсовой, разнотравно-тырсовой, гребенчато-житняковой, типчаковой со спиреей городчатой, полынно-типчаковой, белопопынно-типчаковой, острецовой, мятливой и белопопынной. Наибольшими значениями проективного покрытия и высоты травостоя характеризуются

сообщества формации ковыля перистого (*Stipa pennata* L.) и житняка гребенчатого (*Agropyron pectinatus* (Bieb.) Beauv.). В составе фитоценозов насчитывается до 30 видов растений, среди которых во всех ассоциациях обычны вероника простертая (*Veronica prostrata* L.), резак обыкновенный (*Falcaria vulgaris* Bernh.), типчак (*Festuca valesiaca* Gaud.), келерия тонкая (*Koeleria cristata* L.), шалфей остепненный (*Salvia nemorosa* L.), коровяк фиолетовый (*Verbascum phoenecium* L.), астрагал яйцеплодный (*A. testiculatus* Pall), полынь австрийская (*Artemisia austriaca* Jacq.), подмаренник настоящий (*Galium verum* L.).

Структура изученных сообществ представлена в табл. 2.

Таблица 2

Структура изученных сообществ

Ассоциация	Элементы структурного разнообразия				Индекс структурного разнообразия
	Число видов, шт.	ОПП, %	Наличие степного войлока	Число ярусов	
Перистоковыльная	22	90	+	2	0,98
Типчаково-тырсовая	25	70	+	2	0,99
Разнотравно-тырсовая	30	80	+	3	1,00
Гребенчатожитняковая	25	70	+	2	0,99
Типчаковая со спиреей городчатой	19	70	+	3	0,95
Полынно-типчаковая	16	50	±	2	0,86
Белопопынно-типчаковая	18	60	±	1	0,82
Острецовая	12	20	–	2	0,82
Белопопынная	14	30	–	2	0,82
Мятликовая	12	20	–	1	0,80

Видовое богатство изученных сообществ составило 12–30 видов. Общее проективное покрытие значительно различается в разных фитоценозах: в сообществах формации ковыля перистого значения проективного покрытия высоки – 70–90%, а в фитоценозах с доминированием полыни белой не превышают 30%. Индекс структурного разнообразия достигает максимально возможных значений в разнотравно-тырсовом фитоценозе – 1,0. Для сообществ мятливой ассоциации значения индекса составляют 0,80 и являются наименьшими в ряду изученных фитоценозов.

Кроме того, на территории заказника отмечены участки с луговой растительностью, сформированной преимущественно сообществами формаций *Elytrigia repens* (L.) Nevski и *Bromopsis riparia* (Rehm.) Holub, реже – видами

разнотравья. Индекс структурного разнообразия для всех луговых сообществ соответствует высокому уровню и составляет 0,88–0,99 единиц.

Обобщенный индекс структурного разнообразия для растительности изученного участка в целом составил 0,92, что соответствует очень высокому уровню (исходя из теоретически возможных значений индекса от 0 до 1). Это связано с тем, что, несмотря на наличие отдельных участков простой структурной организации (мятликовые сообщества, придорожные группировки сорных растений), большая часть территории занята сформированными степными сообществами с четкой горизонтальной и вертикальной структурированностью и богатым видовым составом.

Оценка растительного покрова заказника «Саратовский» с определением степени фи-



тоценотической сформированности (табл. 3) показала, что индекс состояния территории оценивается в 51%, что связано с наличием

достаточно больших площадей, лишенных естественной растительности и занятых полями сельскохозяйственных культур.

Таблица 3

Параметры состояния растительности изученного заказника

Параметр	Значение параметра	Коэффициент пересчета
Доля лишенных естественной растительности участков, %	50	0,2
Доля участков средней степени фитоценотической сформированности, %	30	0,7
Доля участков высокой степени фитоценотической сформированности, %	20	1

В пределах исследованной территории было отмечено шесть видов растений, занесенных в Красную книгу Саратовской области [10];

четыре из них охраняются также на федеральном уровне. Характеристика ценопопуляций отмеченных редких видов приведена в табл. 4.

Таблица 4

Состояние ценопопуляций редких видов растений, отмеченных на участке

Вид	Категория и статус	Численность ценопопуляции, особей	Состояние ценопопуляции
<i>Adonis vernalis</i> L.	2 (V) – уязвимый вид	Десятки	Прогрессирующее
<i>Iris pumilla</i> L.*	2 (V) – уязвимый вид	Десятки	Стабильное
<i>Stipa pennata</i> L.*	2 (V) – уязвимый вид	Несколько сотен	Прогрессирующее
<i>Astragalus physodes</i> L.	1 (E) – вид, находящийся под угрозой исчезновения	Единичные	Неопределенное
<i>Centaurea taliewii</i> Клеоп.*	1 (E) – вид, находящийся под угрозой исчезновения	Десятки	Стабильное
<i>Tulipa gesneriana</i> L.*	1 (E) – вид, находящийся под угрозой исчезновения	Единичные	Неопределенное

Примечание. \* – виды, занесенные в Красную книгу России [12].

Индекс природоохранной значимости местообитания составил 15,832 единиц, что соответствует среднему уровню. Поскольку теоретически возможные значения коэффициента природоохранной значимости не имеют верхнего предела, то в конечном расчете биоценотического потенциала территории удобно в целях сравнения его с другими охраняемыми территориями оставлять этот показатель как коэффициент  $R$ .

Обобщенный индекс биоценотического потенциала для изученного участка составил 46,9 $R$  (при максимально возможном значении, исходя из принятой нами шкалы оценок, в 100 $R$ ). Значения индекса биоценотического потенциала, полученные для территории заказника «Саратовский», оказались ниже таковых, рассчитанных для некоторых других охраняемых территорий Саратовской области: памятника природы «Участок степи у с. Лопуховка» [12],

урочища «Синяя гора» [13] и урочища «Дальнее» [8], где интенсивность антропогенного воздействия на растительность значительно ниже. Такое значение биоценотического потенциала является показателем выраженной антропогенной нарушенности растительных сообществ в пределах изученного участка, что вполне объяснимо для территории, расположенной в непосредственной близости от крупных населенных пунктов и включающей большие площади сельскохозяйственных угодий. В целом полученные значения биоценотического потенциала и наличие на территории заказника стабильных и прогрессирующих ценопопуляций редких охраняемых видов растений, экологически связанных с малонарушенными степными местообитаниями, свидетельствуют о высоком природоохранном потенциале данной территории, в том числе с точки зрения сохранения фиторазнообразия.



Работа по изучению растительности и оценке биоценотического потенциала ООПТ Саратовской области продолжается с целью формирования базы для мониторинга фиторазнообразия в пределах охраняемых территорий и оптимизации их сети с учетом данных современных методов индексированной оценки компонентов.

#### Список литературы

1. О состоянии и об охране окружающей среды Саратовской области в 2011 году. Саратов, 2012. 245 с.
2. Особо охраняемые природные территории Саратовской области. Саратов, 2008. 300 с.
3. Юнатов А. А. Типы и содержание геоботанических исследований. Выбор пробных площадей и заложение экологических профилей // Полевая геоботаника. М.; Л., 1964. Т. 3. С. 9–36.
4. Давиденко Т. Н., Невский С. А., Торгашкова О. Н., Давиденко О. Н. Ботанико-экологический практикум : методы сбора и анализа данных. Саратов, 2011. 67 с.
5. Болдырев В. А., Пискунов В. В. Полевые исследования морфологических признаков почв : учеб. пособие для студ. биол. и геогр. фак. 2-е изд., перераб. и доп. Саратов, 2006. 60 с.
6. Беднова О. В. Мониторинг биоразнообразия лесных и урбо-экосистем // Мониторинг состояния лесных и городских экосистем / под ред. В. С. Шалаева, Е. Г. Мозолева. М., 2004. С. 39–51.
7. Василевич В. И. Альфа-разнообразие растительных сообществ и факторы, его определяющие // Биологическое разнообразие : подходы к изучению и сохранению. СПб., 1992. С. 162–170.
8. Черненко Т. В., Князева С. В., Пузаченко М. Ю. и др. Критерии и индикаторы биоразнообразия лесов как инструменты устойчивого природопользования // Лесоведение. 2009. № 6. С. 1–15.
9. Давиденко О. Н., Невский С. А., Давиденко Т. Н. Биоценотический потенциал урочища «Дальнее» // Научные труды национального парка «Хвалынский». Вып. 1. Саратов ; Хвалынский, 2009. С. 118–122.
10. Мэггаран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. М., 1992. 184 с.
11. Красная книга Саратовской области. Грибы. Лишайники. Растения. Животные. Саратов, 2006. 528 с.
12. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / Мин-во природных ресурсов и экологии РФ; Федеральная служба по надзору в сфере природопользования; РАН; Российское ботаническое общество; МГУ им. М. В. Ломоносова; гл. ред.: Ю. П. Трутнев; сост. Р. В. Камелин. М., 2008. 855 с.
13. Давиденко О. Н., Невский С. А., Давиденко Т. Н. Биоценотический потенциал растительности памятника природы «Участок степи у с. Лопуховка» Саратовской области // Вестник КрасГАУ. 2011. Т. 12. С. 93–96.
14. Давиденко О. Н., Невский С. А., Давиденко Т. Н. Биоценотический потенциал растительности памятника природы «Урочище Синяя гора» Саратовской области // Научные труды национального парка «Хвалынский». Вып. 4. Саратов ; Хвалынский, 2012. С. 26–29.



## PERSONALIA

## К 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ВЫДАЮЩЕГОСЯ ЭКОЛОГА МИРА ЮДЖИНА ОДУМА

Д. Б. Гелашвили, Г. С. Розенберг<sup>1</sup>, Г. В. Шляхтин<sup>2</sup>

Нижегородский государственный университет

E-mail: ecology@bio.unn.ru

<sup>1</sup>Институт экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти

E-mail: gelarozenberg@yandex.ru

<sup>2</sup>Саратовский государственный университет

E-mail: biofac@sgu.ru

В статье, посвященной 100-летию со дня рождения Юджина Одума, представлены биографические сведения и краткий обзор некоторых крупнейших его произведений.

**Ключевые слова:** Юджин Одум, биография, экология.

**To the 100 Anniversary from Birthday Remarkable Ecologist Eugene Odum**

**D. B. Gelashvili, G. S. Rozenberg, G. V. Shlyakhtin**

In an article dedicated to the 100<sup>th</sup> anniversary of the birth of Eugene Odum, provides biographical information and an overview of some of the largest his works.

**Key words:** Eugene Odum, biography, ecology.

*Земля – это не только  
наша торговая база, но и наш дом.*

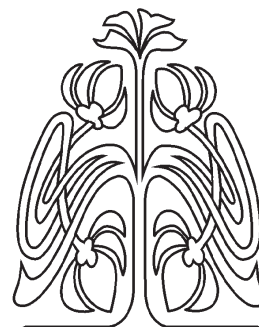
**Юджин Одум**

*«The earth – is not only  
our trading base, but our house»*

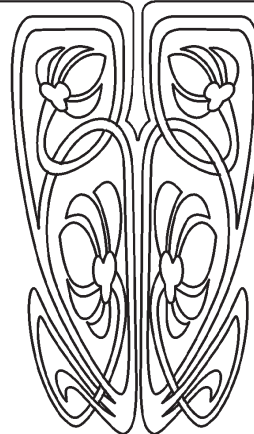
**Eugene [Gene] Pleasants Odum**

В соответствии с расхожей фразой о русских писателях – «все мы вышли из “Шинели” Гоголя», – можно смело говорить о том, что «все экологи (второй половины XX в.) вышли из «Экологии» Юджина Одума».

В августе 1998 г. один из соавторов данной статьи Г. С. Розенберг принял участие в работе 49-й ежегодной сессии Американского института биологических наук (AIBS) в Балтиморе. Этот, как сегодня сказали бы, виртуальный институт объединяет 9 обществ биологического профиля, среди которых Экологическое общество Америки (создано в 1915 г.), Американская ассоциация ботанических садов, Ботаническое общество Америки, Международное общество экологического моделирования (ISEM) и ряд других. В рамках вечернего заседания 3 августа, посвященного проблемам моделирования энергетических процессов в биосфере, сомненно, самым заметным был доклад, который сделал Говард Одум (Howard T. Odum). Розенберг сфотографировал братьев Одумов и беседовал с Юджином Одумом.



**ПРИЛОЖЕНИЯ**





Говард (слева) и Юджин Одумы. 3 августа 1998 г. Балтимор (США)

Фамилия Одум хорошо известна и в США, и во всем мире. Старший из Одумов, отец Юджина и Говарда, – социолог Говард Вашингтон Одум (Howard Washington Odum [1884–1954]) вел свои исследования в южных штатах Америки и обобщил их в монографиях «Южные районы Соединенных Штатов» (1936) и «Районирование Америки» (1938; именно отцу посвятил Юджин Одум брошюру «Экология», которая вышла в 1963 г. в серии «Современная биология» и была переведена на русский язык в 1968 г.; рец. см. [1]). Говард

Томас Одум (родился 1 сентября 1924 г.) был директором Института морских наук Техасского университета, профессором университета во Флориде и активно развивал «энергетическое направление» в экологии. С конца 60-х гг. уже прошлого века публиковал работы по морской экологии Уильям Одум (William Eugene Odum [1942–1991] – сын Юджина П. Одума), стали появляться публикации Элизабет Одум (Elizabeth Chase Odum – жена Говарда Т. Одума с 1974 г., почетный профессор Santa Fe Community College в Гейнсвилле, штат Флорида).



Юджин Одум и Геннадий Розенберг. 4 августа 1998 г. Балтимор (США)



Юджин Одум (Eugene Pleasants Odum) родился 17 сентября 1913 г. в городе Ньюпорт штата Нью-Хэмпшир (США; Newport, New Hampshire); друзья и коллеги часто звали его Gene (большая часть биографических подробностей почерпнута из [2, 3]). После окончания школы в 1929 г. Юджин поступил в Университет Северной Каролины. Начав изучать зоологию и орнитологию, он отдал предпочтение ботанике, поскольку не любил препарировать животных. Однако зоология «взяла свое»: острый слух позволял ему определить практически любую птицу, чей голос он слышал. Его глубокий интерес к птицам выразился и в том, что с весны 1931 г. он со своим другом Койт Кокером (Coit Coker) стал вести в местной газете «Chapel Hill Weekly» колонку «Жизнь птиц в Чапел-Хилл» [4]. Уже в 1934 г. он получил степень бакалавра, а в 1936 г. – магистра по естественным наукам. На протяжении всей своей жизни Юджин проявлял живой интерес к проблемам орнитологии [5].

Планируя свое дальнейшее (высшее) образование, Юджин отверг как Мичиганский, так и Корнельский университеты, так как он не увидел в них возможность воплотить в докторской диссертации свои, уже сложившиеся к тому времени, системные взгляды на биологию. Он выбрал аспирантуру по зоологии в общественном Университете штата Иллинойс (Illinois State University) и в 1937 г. стал учеником Виктора Шелфорда (Victor Ernest Shelford); в 1939 г. он защитил PhD-диссертацию. Его диссертация была одним из первых исследований физиологии сердца у птиц в разных экологических условиях.

Во время обучения в аспирантуре в университете Иллинойса большое влияние на Одума оказал Виктор Шелфорд, который в то время завершил работу и издал монографию «Био-экология» [6] совместно с фитоценологом Ф. Клементсом (Frederic Edward Clements). Шелфорд в своих экологических исследованиях придавал особое значение биомам (крупным ландшафтными единицам – степь, тайга, тропический лес и пр.), подчеркивая их целостный характер (суперорганизмы). Одум вспоминал, что Шелфорд был достаточно язвительен в своем обличении редуccionизма, считая эту методологию «анти-экологичной». Фактически Шелфорд превратил Юджина из классического зоолога в «целостного эколога», который перенес представления о гомеостазе с уровня организма на уровень экосистемы (хотя Одум и избегал называть экосистемы «суперорганизмами»).

Таким образом, организменные, антропоцентрические аналогии стали для Одума основой его концепции.

В это время он познакомился с Мартой Хуфф (Martha Ann Huff), которая в том же 1939 г. стала его женой, и с которой он счастливо прожил до её смерти в 1995 г.; у них было двое сыновей – Уильям (William Eugene Odum [1942–1991]; пошел по стопам своего отца и дяди и занимался экологией в Университете штата Виргиния [Virginia]) и Даниэль (Daniel Thomas Odum [1944–1987]; он сильно отставал в развитии и почти всю жизнь провел в больницах). Марта получила PhD-степень по дизайну, она часто писала пейзажи во время поездок с мужем по всей территории США и за рубежом, участвовала в выставках и выпустила несколько альбомов акварельных рисунков; некоторые из её акварелей Ю. Одум использовал при оформлении обложек своих книг. Проработав чуть меньше года в заповеднике на юго-западе штата Нью-Йорк, осенью 1940 г. Юджин и Марта Одумы переехали в Афины (Athens), где Юджин стал преподавателем биологического факультета Университета штата Джорджия; в этом университете он проработал всю свою жизнь и покинул его после своего 70-летия в 1984 г.; однако он каждый день приходил на работу и опубликовал в 85-летнем возрасте свои последние «солевые» монографии [7, 8]), а Марта стала одним из лидеров арт-сообщества Афин. Преподавательская работа неизбежно связана с составлением новых учебных программ, и этот процесс заставил Юджина обратить самое пристальное внимание на экологию как науку, позволяющую изучать экосистемы в целом. Однако дальнейшему развитию его системных идей применительно к экологии помешала война. Три года он работал на курсах по подготовке медсестер, вел исследования лекарственных растений, читал лекции по фармакологии.

В 1953 г. Юджин со своим братом Говардом, аспирантом Йельского университета, публикуют фундаментальную работу «Основы экологии» [9]; всего выйдут пять изданий этой книги, она переведена на 13 языков мира (перевод на русский [10] осуществлен с третьего издания [11]) и до сих пор остается основой экологического мировоззрения. Последнее издание выйдут уже после кончины Ю. Одума [12]. В 1953 г. братья Одум принимали самое активное участие в создании Морского института на острове Сапело при университете, на базе которого ведутся фундаментальные экологические исследования морских экосистем, готовятся бакалавры и



аспиранты. Ю. Одум с профессорами Дж. Бойдом (George Boyd) и Д. Скоттом (Donald Scott) входит в состав комитета, который подготовил предложения по созданию такого института с целью изучения биологической продуктивности в прибрежных водах и болотах региона. Полученные почти за 20 лет результаты работы Морского института (защищены сотни дипломов, опубликованы тысячи научных работ и большое количество книг) позволили Юджину в 1970 г. принять активное участие в разработке закона о защите прибрежных болотных угодий. И первая награда: за статью в журнале «*Ecological Monographs*» [13, 14] в 1956 г. Говард и Юджин получили молодежную премию Мерсер (George Mercer Award) Экологического общества Америки.

В 1955 г. произошло событие, которое коренным образом повлияло на всю дальнейшую жизнь и карьеру Юджина: Комиссия по атомной энергии США (АЕС) приняла решение построить на землях Южной Каролины (рядом с границей штата Джорджия) ядерный могильник Саванна-Ривер – предприятие, занимающееся хранением, дезактивацией и переработкой радиоактивных отходов. Для изучения влияния этого могильника на растения и животных ближайших территорий была создана экологическая лаборатория. Программа исследований Ю. Одума показалась АЕС самой интересной, и он «в одночасье» стал руководителем одной из крупнейших экологических лабораторий на Земле (около 300 квадратных миль закрытой от общественности территории и самое современное оборудование). Участвуя в этих работах, Юджин заложил основы системно-экологических исследований и сформировал первый коллектив профессиональных экологов. Сегодня в этой лаборатории работает около тысячи сотрудников, выпускается научно-практический журнал «*SRNS Today*», годовой бюджет SRNL оценивается более чем в \$210 млн. Работая в лаборатории, Ю. Одум задумался о необходимости создания учебника по экологии. В этом же 1955 г. Одум был избран делегатом первой международной конференции «Атом для мира»\*, состоявшейся в Женеве (Швейцария).

\* 8–20 августа 1955 г. состоялась первая международная Женевская научно-техническая конференция по мирному использованию атомной энергии, ставшая важной вехой в истории человечества, в частности в международном сотрудничестве учёных [15]. 73 страны мира прислали 1400 делегатов и столько же наблюдателей. Из представленных 1067 научных работ были зачитаны и обсуждены 450, такого грандиозного форума наука до той поры, пожалуй, и не знала.

Вернувшись на биологический факультет Университета штата Джорджия, Ю. Одум в 1960 г. создал и возглавил (на протяжении более чем 30 лет) первый Институт экологии при университете (UGA Institute of Ecology). Первоначально Институт занимался проблемами радиационной экологии (и даже назывался Институт радиационной экологии, но в 1967 г. слово «радиационной» из названия было изъято...), позднее, как научно-исследовательский институт, стал обслуживать кафедры биологического факультета университета, далее (1993 г.) приобрел статус школы в Колледже искусств и наук, в 2001 г. превратился в Колледж окружающей среды и дизайна (College of Environment & Design), а 1 июля 2007 г. Институт экологии переименовали в честь основателя – Школа экологии им. Юджина Плезантс Одума (Odum School of Ecology).

В 1963 г. Юджин пишет учебник по экологии [16, 17], который, как уже отмечалось выше, посвящает своему отцу. Этот учебник также многократно переиздавался, рос в объеме (как подчеркивает сам Одум [18, т. 1, с. 8], «как правило, при переиздании учебники начинают страдать “синдромом динозавра”»: они становятся все более толстыми, все более энциклопедичными и все менее полезными для студентов, особенно начинающих») и в 1986 г. он вышел в двухтомном русском переводе [18, 19], получив высокую оценку специалистов [20]. По мнению многих специалистов, книги Ю. Одума сформировали целое поколение экологов. Именно благодаря его работам экология перешла от аут- и демэкологических исследований к синэкологическим (ландшафтно-ценоотическим или собственно экосистемным). В основу одумовской концепции было положено представление о том, что все виды растений и животных (в том числе и человек) равноценны на нашей планете и все имеют право на существование. Осознание эмерджентного характера изменения организации (структуры) и функций (динамики) сложных экосистем («принцип не сводимости свойств целого к сумме свойств его частей должен служить первой рабочей заповедью экологов» [18, т. 1, с. 17]) в зависимости от соответствующего уровня их существования открыл большие возможности для решения многих экологических проблем, с которыми столкнулось человечество [21].

Наступило время получения наград за свои труды. В 1964 г. Ю. Одум был избран президентом Экологического общества Аме-



рики (в 1974 г. он получил высшую награду этого общества – Eminent Ecologist Award from the Ecological Society of America; Обществом учреждена именная премия за экологическое образование – Eugene P. Odum Award for Excellence in Ecology Education), в 1970 г. его избрали членом Национальной академии наук (первым среди сотрудников биологического факультета университета), далее почетным членом Британского экологического общества (1974 г.). Вместе со своим братом Говардом он получил премию «Prix de l'Institut de la Vie» французского правительства в размере \$80 тыс. (1975 г.); он также получил премию Тайлера по экологии (John & Alice Tyler Prize for Environmental Achievement), и чек на \$150 тыс. (1977 г.) ему вручил президент США Джимми Картер (Jimmy Carter) на церемонии в Белом доме. В 1976 г. Фондом охраны дикой природы штата Джорджия он был назван «Природоохранником года». В 1981 г. Юджин был награжден медалью Лоухлин (Cynthia Pratt Laughlin Medal by the Garden Club of America) за выдающиеся достижения в охране окружающей среды и поддержании качества жизни. Национальная федерация Фонда дикой природы назвала Ю. Одума в 1983 г. «Педагогом года».

По случаю ухода Ю. Одума из университета и к 71-й годовщине со дня его рождения 17 сентября 1984 г. в университете был открыт его бронзовый бюст (скульптор Уильям Томпсон [William J. Thompson]), на постаменте которого выгравированы слова Юджина: «An ecosystem

is greater than the sum of its parts» (Экосистема нечто большее, чем сумма её частей). В 1987 г. Юджин и Говард Одумы получили премию Крафорда (Crafoord Prize), присуждаемую Шведской королевской академией (считается эквивалентом Нобелевской премии, которая не присуждается по экологии) – \$250 тыс.; на свою долю Юджин создал частный фонд для поощрения научных исследований и образования в области экологии.

В 1989 г. Юджин стал лауреатом премии корпорации Шеврон за достижения в охране окружающей среды (Chevron Conservation Award), а в 1991 г. он был удостоен золотой медали и премии Теодора Рузвельта (Theodore Roosevelt Distinguished Service Award) за особые служебные заслуги. Педагогический талант Ю. Одума был отмечен и в 1992 г. премией за экологическое образование Американского общества экологической токсикологии и химии

Умер Юджин Одум 10 августа 2002 г. в Афинах (штат Джорджия) от сердечного приступа во время работы в своем любимом саду. Хотя смерть и наступила (как всегда) неожиданно, он готовился к ней. Свое имение (семейная ферма; 26 акров  $\approx$  110 000 м<sup>2</sup>) в среднем течении небольшой реки Окони (Middle Oconee River) в Афинах он завещал продать, но не под застройку, а под зеленую зону с пешеходными тропинками (своего рода, мини-природный парк), а вырученные деньги (около \$1 млн) на-



Ю. Одум на открытии памятника. 17 сентября 1984 г.



править в фонды трех университетов – родного университета Джорджии, университета своего сына Уильяма в Виргинии и университета отца в Северной Каролине. Но он оставил всем нам и что-то еще более ценное: он научил людей воспринимать мир как гигантскую экосистему, все части которой взаимосвязаны, и взаимоотношения с которой следует строить на научно-экологических принципах.

В памяти современников он останется как блестящий ученый, незаурядный мыслитель, заядлый и энергичный натуралист, прекрасный преподаватель и харизматичный популяризатор экологии, который использовал её принципы в своем анализе любой ситуации, будь то эколо-

гические, социальные или политические процессы. «Юджин Одум был одной из нескольких наиболее влиятельных фигур в формировании современной экологии в XX веке. Пионер в изучении экосистем, он принес строгость и детальное знание профессионального натуралиста в столь пугающий [своей сложностью] предмет. Как автор основного учебника по экологии, он сформировал и ускорил развитие своей области. И, не в последнюю очередь, в качестве педагога, его влияние на последующие поколения не имеет аналогов, как по численности, так и по значимости (качеству) студентов, которых он обучил» (профессор Гарвардского университета Эдвард О. Уилсон).

\* \* \*

Дать полный обзор научной и преподавательской деятельности Юджина П. Одума в столь краткой статье не представляется возможным. Мы остановимся лишь на одной из последних его работ [7], которая названа очень символично: «Экология: Мост между наукой и обществом». Достаточно подробная рецензия на эту книгу уже была опубликована [22] и здесь мы лишь попытаемся проследить корни его воззрений на взаимодействия в системе «Природа – Человек».

Юджина Одума нельзя напрямую отнести к «отцам-основателям» энвайронментализма (environmentalism). Однако та база знаний и системный образ мышления, который он «внедрял в голову» своим студентам и многочисленным последователям, несомненно, стали теоретической основой экологического движения, которое с 50-х гг. прошлого столетия с возрастающей скоростью распространяется по всему миру. Одум начал свою профессиональную карьеру, развивая и пропагандируя идеи (в частности, системной экологии), которые не шли «в ногу» с представлениями многих его современников. Став признанным классиком современной экологии и памятуя об этом, он всегда старался поддержать тех, чьи экологические взгляды оказывались «в меньшинстве».

При этом, оставаясь оригинальным мыслителем, Ю. Одум критически относился к целому ряду лозунгов и модных концепций «зеленого движения». В частности, он призывал не преувеличивать важность одного из самых популярных лозунгов экологического движения «Красота в малом – Small is Beautiful» и предлагал изменить его на «Если красота в малом, то мощь в

большом – Small if Beautiful but Big is Powerful».

Системно-организменные экологические представления неизбежно привели Ю. Одума к некоторым весьма широким обобщениям, которые он изложил в книге «Экология. Связь между естественными и социальными науками» [23]. В этой книге ощущается сильное влияние на его видение предмета даже не столько эколога В. Шелфорда, сколько социолога и отца Говарда В. Одума; более того, Одум прямо пишет, что отец вдохновил его «искать более гармоничные отношения между человеком и природой» [24, р. 193; 23, р. 8;]; такое взаимопроникновение социальных и экологических идей позволило, например, Карен Ротаби [25, р. 113] назвать свою статью «Экологическая теория [вышла] из социальных наук или наоборот?». Может быть именно поэтому 22 апреля 1970 г., когда проводился первый День Земли (Earth Day), Юджин Одум (вместе с Барри Коммонером [Barry Commoner] [26]) был наиболее востребован средствами массовой информации, – он дал интервью газетам и журналам «Time», «Newsweek», «Life» и другим популярным изданиям; тогда и появился его афоризм, который Юджин любил повторять впоследствии, вынесенный в эпиграф этой статьи.

Через 35 лет после выхода книги [23], завершая одну из последних своих монографий [7, р. 299], Ю. Одум писал: «Слова “устойчивость” и “устойчивый”, которые мы используем для описания цели развития нашего общества, появляются с возрастающей частотой в статьях, сборниках и монографиях и трактуются в очень широком диапазоне. “Устойчивый рост” или “устойчивое развитие”, например, можно



воспринимать и как поддержание ресурсов для обеспечения будущих поколений, и как поддержание роста (т. е. чем больше, тем лучше), что невозможно. Я предлагаю для описания цели нашего общества понятие “зрелость – maturity”, так как мы все [человечество] переживаем переход именно от юности к зрелости (опять организменные аналогии. – *Авторы*), от количественного к качественному развитию...». И в то же время через несколько страниц Одум пишет (р. 303): «Цивилизация – это система, а не организм... Цивилизации не обязательно должны расти, взрослеть, стареть и умирать, как живые организмы, хотя этот процесс и имел место в прошлом (например, Римская империя)... Цивилизации становятся нестабильными и распадаются, когда растет стоимость бюрократии, что ведет к неограниченному росту производственного сектора. Эти представления совпадают с теориями емкости экосистем, их сложностью и закономерностями потоков энергии. Таким образом, мы можем многому научиться, изучая экологию и применяя эти знания для преодоления трудностей, стоящих перед человечеством».

Какие же пути такого перехода видел 85-летний классик системной экологии на рубеже тысячелетий? Прежде всего, это «модельные результаты», полученные его коллегами, которые с разной степенью допущений и убеждений Одум готов принять (р. 300–301):

1) необходимость проведения социальных, экономических и политических изменений вместе с ожидаемым технологическим прогрессом;

2) население и ресурсы не могут расти бесконечно на конечной планете (finite planet);

3) необходимость заметного снижения темпов роста населения и городского промышленного развития (последнее должно привести к снижению вероятности крупных аварий в системах жизнеобеспечения);

4) понимание того, что продолжать вести «бизнес как обычно – business as usual» нельзя из-за опасности роста негативных социальных и экологических последствий;

5) кооперация в перспективе (стратегия) более полезна для устойчивого развития, чем конкуренция на небольших промежутках времени (тактика); в этом просматривается прямая аналогия с экологическими представлениями о мутуализме, в изучении которого на коралловых рифах Japтан атолла Eniwetok (Маршалловы острова в Тихом океане) братья Одумы осо-

бенно преуспели [14]; Юджин и в дальнейшем последовательно проводил мысль о том, что взаимодействующие виды, как правило, развиваются от примитивных форм паразитизма к более продвинутым формам кооперации;

б) возрастание роли взаимозависимости между народами и нациями для преодоления современных нежелательных тенденций развития мира (принятые сегодня меры будут более эффективными и менее затратными, чем меры, принятые завтра); это требует сильного политического руководства, так как ко времени, когда социально-экологические проблемы станут очевидны всем, может быть слишком поздно.

Однако в книге [7, р. 301] он предлагает и собственные подходы к «пониманию наших (социо-эколого-экономических. – *Авторы*) проблем и вариантов выхода из беспорядка, в котором мы находимся». Прежде всего, Одум призывает понять (прочувствовать), что период «юности» человечества завершен и модель поведения (решение одной проблемы на короткий срок) становится неэффективной. В этом Одум полностью солидарен с экономистом А. Каном (Alfred Edward Kahn), который называл такое поведение «тиранией небольших решений» (пример, который приводит Одум: увеличение высоты дымовых труб – быстрое решение для локального загрязнения, но много таких «мелких решений» ведет к более серьезной проблеме – региональному загрязнению воздуха). Еще одна смена парадигм должна произойти в этот период перехода от «юности к зрелости» – это смена управленческих приоритетов от властвования (в полном соответствии с «Ветхим Заветом. Книга Бытия» [1 : 28] – «И благословил их Бог, и сказал им Бог: плодитесь и размножайтесь, и наполняйте землю, и обладайте ею, и *владычествуйте* над рыбами морскими и над птицами небесными, и над всяким животным, пресмыкающимся по земле») к попечительскому, ответственному управлению (использованию и охране природной среды). В этом контексте Одум говорит об экосистемных услугах, которые получает человек, но которые никак не учитываются в стоимости производимых товаров. Симптоматично, что и последняя совместная статья братьев Одумов [27] была посвящена именно этой очень актуальной сегодня проблеме – возможным способам и методам (прежде всего, энергетическим) оценки экосистемных услуг.

И еще одна оригинальная мысль Ю. Одума – это указание на то, что «Больше всего нам



необходимо развивать двойной капитализм, который дает равные значения человеческому производству и природным ресурсам» [7, p. 313]; в ходе подготовки и после саммита 2012 г. в Рио-де-Жанейро эти взгляды оформились в представления о «зеленой экономике» (см. обзор: [28]).

Завершить наше небольшое эссе мы хотим словами В. У. Крейга – биографа и коллеги Юджина Плезантс Одума, которая, наверняка, знала его лучше [29]: «Гена Одум (Gene Odum) дал нам целостный способ мышления о мире. Он увидел взаимосвязи в экосистемах и показал долгосрочную выгоду от сотрудничества в системах любого рода, будь то природные или социальные [системы]. С присущим ему оптимизмом он считал, что люди, в конечном счете, научатся жить в большей гармонии друг с другом и с нашей природной средой. Гена Одум был невероятно мудрым. Я также надеюсь, что он был прав».

#### Список литературы

1. Миркин Б. М. Рец. на кн.: Одум Е. Экология. М.: Просвещение, 1968.
2. Barrett G. W. Eugene Pleasants Odum, 1913–2002 // A Biographical Memoir. Washington (DC): National Acad. Sci. Press, 2005. Vol. 87. 16 p.
3. Craige B. J. Eugene Odum: Ecosystem Ecologist & Environmentalist. Athens: Univ. of Georgia Press, 2001. 226 p.
4. Ceska A. Eugene Odum (1913–2002) // Botanical Electronic News. 2002. № 296, October 8. URL: <http://www.ou.edu/cas/botany-micro/ben/ben296.html> (дата обращения: 12.09.2013).
5. Meyers J. M., Johnston D. W. In memoriam: Eugene Pleasants Odum, 1913–2002 // Auk. 2003. Vol. 120. P. 536–538.
6. Clements F. E., Shelford V. E. Bio-ecology. N.Y.: J. Wiley & Sons; L.: Chapman and Hall, 1939. 425 p.
7. Odum E. P. Ecology. A Bridge between Science and Society, 2nd ed. Sunderland, Massachusetts (U.S.A.): Sinauer Ass., Inc., 1998. 330 p.
8. Odum E. P. Ecological Vignettes: Ecological Approaches to Dealing with Human Predicaments. N.Y.: Taylor & Francis, 1998. 269 p.
9. Odum E. P., Odum H. T. Fundamentals of Ecology / 1st ed. Philadelphia (PA): W. B. Saunders Co., 1953. 383 p.
10. Одум Ю. Основы экологии. М.: Мир, 1975. 740 с.
11. Odum E. P. Fundamentals of Ecology / 3rd ed. Philadelphia (PA): W.B. Saunders Co., 1971. 574 p.
12. Odum E. P., Barrett G. W. Fundamentals of Ecology / 5 ed. Stamford (Connecticut): Cengage Learning, 2004. 624 p.
13. Barile P. J. Comments on «Trophic structure and productivity of a windward coral reef community on Eniwetok Atoll» [Ecological Monographs 25 (3) (1955) 291–320] // Ecol. Modelling. 2004. Vol. 178. P. 51–57.
14. Odum H. T., Odum E. P. Trophic structure and productivity of a windward coral reef community on Eniwetok Atoll // Ecol. Monogr. 1955. Vol. 35. P. 291–320.
15. Международное научное сотрудничество по мирному использованию атомной энергии // Вестн. АН СССР. 1955. № 9. С. 47–61.
16. Одум Е. Экология. М.: Просвещение, 1968. 168 с.
17. Odum E. P. Ecology. N.Y.: Holt, Rinehart & Winston, 1963. 152 p.
18. Одум Ю. Экология: в 2 т. М.: Мир, 1986. Т. 1. 328 с.; Т. 2. 376 с.
19. Odum E. P. Basic Ecology. N.Y.: CBS College Publ., 1983. 434 p.
20. Миркин Б. М. Рец. на кн.: Одум Ю. Экология: в 2 ч. М.: Мир, 1986. Т. 1. 328 с. Т. 2. 376 с. // Журн. общ. биол. 1987. Т. 48, № 2. С. 279–281.
21. Golley F. B. A History of the Ecosystem Concept in Ecology: More than the Sum of the Parts. New Haven (CT): Yale Univ. Press, 1993. 254 p.
22. Розенберг Г. С. Рец. на кн.: Odum E. P. Ecology. A Bridge between Science and Society, 2nd ed. Sunderland (Massachusetts): Sinauer Ass., Inc., 1998. 330 p. // Журн. общ. биол. 1999. Т. 60, № 4. С. 460–464.
23. Odum E. P. Ecology: The Link between the Natural and Social Sciences. N.Y.: Holt, Rinehart & Winston, 1963. 244 p. (2nd ed. N.Y.: Holt-Saunders, 1975. 244 p.).
24. Jamison A. National political cultures and the exchange of knowledge: the case of systems ecology // Denationalizing Science: The Contexts of International Scientific Practice / ed. by E. Crawford, T. Shinn, Sverker Sorlin. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1992. P. 187–208.
25. Rotabi K. S. Ecological theory origin from natural to social science of vice versa? A brief conceptual history for social work // Advances in Social Work. 2007. Vol. 8, № 1. P. 113–129.
26. Розенберг Г. С. «Я никогда не был эко-уродом (I have never been an eco-freak)» // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии: Бюл. 2013. Т. 22, № 3.
27. Odum H. T., Odum E. P. The energetic basis for valuation of ecosystem services // Ecosystems. 2000. Vol. 3. P. 21–23.
28. Розенберг Г. С., Кудинова Г. Э. На пути к «зеленой» экономике (знакомься с докладом ЮНЕП к «Рио + 20») // Биосфера. 2012. Т. 4, № 3. С. 245–250.
29. Craige B. J. Eugene Odum (1913–2002). A fond farewell to the Father of Modern Ecology // Back Page. 2002, Dec. Vol. 82, № 1. URL: <http://www.uga.edu/gm/1202/FeatBack.html> (дата обращения: 12.09.2013).





## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Аникин Василий Викторович** – профессор кафедры морфологии и экологии животных биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р биол. наук. E-mail: anikinvasiliiv@mail.ru

**Архипова Екатерина Александровна** – ведущий инженер кафедры ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: arhipovaea@mail.ru

**Беляков Андрей Юрьевич** – аспирант биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: beland89@mail.ru

**Березуцкий Михаил Александрович** – профессор кафедры методики преподавания биологии и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р биол. наук. E-mail: bereztsky61@mail.ru

**Бесараб Надежда Павловна** – студент факультета нано- и биомедицинских технологий Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: besarabnadya@yandex.ru

**Бойко Владимир Сергеевич** – студент Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: annamatveeva2008@ya.ru

**Болдырев Владимир Александрович** – заведующий кафедрой ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, профессор, д-р биол. наук. E-mail: boldyrevva@info.sgu.ru

**Борисова Маргарита Юрьевна** – студент Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: annamatveeva2008@ya.ru

**Бурмистрова Наталия Анатольевна** – доцент кафедры общей и неорганической химии Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. хим. наук. E-mail: naburmistrova@mail.ru

**Веденеева Наталия Владимировна** – аспирант Саратовского государственного технического университета имени Гагарина Ю. А. E-mail: ecology@sstu.ru

**Воронин Максим Юрьевич** – доцент кафедры морфологии и экологии животных биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд биол. наук. E-mail: voroninmj@yandex.ru

**Гелашвили Давид Бежанович** – заведующий кафедрой экологии Нижегородского государственного университета имени Н. И. Лобачевского, профессор, д-р биол. наук. E-mail: ecology@bio.unn.ru.

**Горин Дмитрий Александрович** – профессор кафедры физики полупроводников Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р хим. наук. E-mail: gorinda@mail.ru

**Давиденко Ольга Николаевна** – доцент кафедры ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: biosovet@sgu.ru

**Давиденко Татьяна Николаевна** – доцент кафедры ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: biosovet@sgu.ru

**Демихова Дарья Сергеевна** – аспирант биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: TyrnovVS@info.sgu.ru

**Иноземцева Ольга Александровна** – доцент кафедры материаловедения, технологии и управления качеством факультета нано- и биомедицинских технологий Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. хим. наук. E-mail: inozemtsevaoa@mail.ru

**Исакова Фарида Мудалиевна** – студент Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: IsakovaFM@mail.ru

**Кашин Александр Степанович** – профессор кафедры методики преподавания биологии и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р биол. наук. E-mail: kashinas2@yandex.ru

**Колонтаева Ольга Андреевна** – аспирант Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: naburmistrova@mail.ru

**Кривенько Адель Павловна** – профессор кафедры органической и биоорганической химии Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р хим. наук. E-mail: annamatveeva2008@ya.ru

**Крицкая Татьяна Алексеевна** – аспирант биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: kriczkaya.tatyana@mail.ru

**Кудаева Татьяна Владимировна** – студент Мордовского государственного университета имени Н. П. Огарева. E-mail: tanyshka06.07@mail.ru

**Кумаргалиева Диана Нуржановна** – аспирант Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: kumargalievadiana@yandex.ru

**Мажукина Ольга Анатольевна** – доцент кафедры органической и биоорганической химии Института химии Саратовского



государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. хим. наук. E-mail: kumargalieva.diana@yandex.ru

**Маркин Алексей Викторович** – аспирант Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: av\_markin@mail.ru

**Матвеева Анна Александровна** – инженер Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: annamatveeva2008@ya.ru

**Монахова Юлия Борисовна** – научный сотрудник Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. хим. наук. E-mail: yul-monakhova@mail.ru

**Муштакова Светлана Петровна** – заведующая кафедрой общей и неорганической химии Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, профессор, д-р хим. наук. E-mail: MushtakovaSP@info.sgu.ru

**Навотный Олег Игоревич** – соискатель кафедры физической химии Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: Volga-dv@yandex.ru

**Невский Сергей Александрович** – доцент кафедры ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: biosovet@sgu.ru

**Нечаева Ольга Викторовна** – ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Саратовского государственного медицинского университета имени В. И. Разумовского, канд. биол. наук. E-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru

**Новгородова Татьяна Александровна** – старший научный сотрудник Института систематики и экологии животных (г. Новосибирск), канд. биол. наук. E-mail: tanovg@yandex.ru

**Павлова Надежда Сергеевна** – магистр биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: nadya1818@yandex.ru

**Папченков Владимир Гаврилович** – заведующий лабораторией высшей водной растительности Института биологии внутренних вод имени И. Д. Паланина РАН (п. Борок, Ярославская область), профессор, д-р биол. наук. E-mail: boldyrevva@info.sgu.ru

**Плешакова Екатерина Владимировна** – профессор кафедры биохимии и биофизики Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р биол. наук. E-mail: plekat@rambler.ru

**Ревин Виктор Васильевич** – заведующий кафедрой биотехнологии Мордовского государственного университета имени Н. П. Огарева, профессор, д-р биол. наук. E-mail: biotech@moris.ru

**Решетникова Татьяна Борисовна** – заведующий кафедрой методики преподавания биологии и экологии биологического

факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: rtb-55@mail.ru

**Решетов Вячеслав Александрович** – профессор кафедры физической химии Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р тех. наук. E-mail: reshetovva@info.chem.ru

**Розенберг Геннадий Самуилович** – директор Института экологии Волжского бассейна РАН (г. Тольятти), д-р биол. наук. E-mail: ievbras@mail.ru

**Родзаевская Елена Борисовна** – профессор кафедры гистологии Саратовского государственного медицинского университета имени В. И. Разумовского, д-р биол. наук. E-mail: vovatur1983@mail.ru

**Ромаденкина Светлана Борисовна** – доцент кафедры нефтехимии и техногенной безопасности Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. хим. наук. E-mail: romadenkina@yandex.ru

**Русанова Татьяна Юрьевна** – заведующий кафедрой аналитической химии и химической экологии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, д-р хим. наук. E-mail: tatyanyars@yandex.ru

**Рябинин Артем Сергеевич** – аспирант Института систематики и экологии животных (г. Новосибирск). E-mail: artmi777@yandex.ru

**Сажнев Алексей Сергеевич** – аспирант биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: sazh@list.ru

**Серова Людмила Александровна** – начальник научного отдела Национального парка «Хвалынский». E-mail: laserova@mail.ru

**Сметанина Мария Даниловна** – доцент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: vovatur1983@mail.ru

**Смолькина Юлия Валерьевна** – научный сотрудник научно-исследовательской части Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: TurnovVS@info.sgu.ru

**Суетенков Дмитрий Евгеньевич** – заведующий кафедрой стоматологии детского возраста и ортодонтии Саратовского государственного медицинского университета имени В. И. Разумовского, канд. мед. наук. E-mail: suetenkov@gmail.ru

**Тиховский Дмитрий Александрович** – соискатель кафедры физической химии Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: romadenkina@yandex.ru

**Торгашкова Ольга Николаевна** – доцент кафедры ботаники и экологии биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: torgaschkova88@mail.ru



**Тупикин Владимир Дмитриевич** – ассистент кафедры гистологии Саратовского государственного медицинского университета имени В. И. Разумовского, канд. мед. наук. E-mail: vovatur1983@mail.ru

**Тырнов Валерий Степанович** – заведующий кафедрой генетики биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, профессор, д-р биол. наук. E-mail: TyrnovVS@info.sgu.ru

**Уварова Ирина Александровна** – доцент кафедры гистологии Саратовского государственного медицинского университета имени В. И. Разумовского, канд. биол. наук. E-mail: iauvarova@yandex.ru

**Федотова Ольга Васильевна** – директор Института химии, заведующий кафедрой органической и биоорганической химии Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, профессор, д-р хим. наук. E-mail: inchem@infosgu.ru

**Цикин Алексей Максимович** – аспирант Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: tsikinalexey@mail.ru

**Шляхтин Геннадий Викторович** – декан биологического факультета, заведующий кафедрой морфологии и экологии животных биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, профессор, д-р биол. наук. E-mail: biofac@sgu.ru

**Шорина Лидия Николаевна** – доцент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского, канд. биол. наук. E-mail: vovatur1983@mail.ru

**Шутова Виталина Викторовна** – доцент кафедры биотехнологии Мордовского государственного университета имени Н. П. Огарева, канд. биол. наук. E-mail: vshutova@yandex.ru

**Юрова Надежда Сергеевна** – студент Института химии Саратовского государственного университета имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: nad4883@yandex.ru



## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Anikin Vasilii Viktorovich** – Professor, Chair of Animals Morphology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Doctor of Biological Science. E-mail: anikinvasiliiv@mail.ru

**Arhipova Ekaterina Alexandrovna** – Chief Engineer, Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: arhipovaea@mail.ru

**Belyakov Andrey Yurievich** – Graduate Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: beland89@mail.ru

**Berezutski Michail Alexandrovich** – Professor, Chair of Methods of Teaching of Biology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Doctor of Biological Science. E-mail: berezutsky61@mail.ru

**Besarab Nadezhda Pavlovna** – Student, Department of Nano- and Biomedical Technologies, Saratov State University. E-mail: besarabnadya@yandex.ru

**Boldyrev Vladimir Alexandrovich** – Head of Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Professor, Doctor of Biological Science. E-mail: boldyrevva@info.sgu.ru

**Borisova Margarita Yurievna** – Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: annamatveeva2008@ya.ru

**Boyko Vladimir Sergeevich** – Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: annamatveeva2008@ya.ru

**Burmistrova Natalia Anatolievna** – Associate Professor, Chair of General and Inorganic Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University, Ph. D. E-mail: naburmistrova@mail.ru

**Davidenko Olga Nikolaevna** – Associate Professor, Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: biosovet@sgu.ru

**Davidenko Tatiana Nikolaevna** – Associate Professor, Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: biosovet@sgu.ru

**Demikhova Daria Sergeevna** – Graduate Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: TyrnovVS@info.sgu.ru

**Fedotova Olga Vasilievna** – Director, Institute of Chemistry, Head of Chair of Organic and Bioorganic Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University, Professor, Doctor of Chemical Science. E-mail: inchem@infosgu.ru

**Gelashvili David Bezhanovich** – Head of Chair of Ecology, State University of Nizhni Novgorod, Professor, Doctor of Biological Science. E-mail: ecology@bio.unn.ru

**Gorin Dmitry Alexandrovich** – Professor, Chair of Physics of Semiconductors, Saratov State University, Doctor of Chemical Science. E-mail: gorinda@mail.ru

**Inozemtseva Olga Alexandrovna** – Associate Professor, Chair of Materials, Technology and Quality Management, Department of Nano- and Biomedical Technologies, Saratov State University, Ph. D. E-mail: inozemtsevaoa@mail.ru

**Isakova Farida Mudalievna** – Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: IsakovaFM@mail.ru

**Kashin Alexandr Stepanovich** – Professor, Methods of Teaching of Biology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Doctor of Biological Science. E-mail: kashinas2@yandex.ru

**Kolontaeva Olga Andreevna** – Graduate Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: naburmistrova@mail.ru

**Kritzkaia Tatyana Alexeevna** – Graduate Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: kriczkaya.tatyana@mail.ru

**Kriven'ko Adel Pavlovna** – Professor, Chair of Organic and Bioorganic Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University, Doctor of Chemical Science. E-mail: annamatveeva2008@ya.ru

**Kudaeva Tatiana Vladimirovna** – Student, Mordovia State University. E-mail: tanyshka06.07@mail.ru

**Kumargalievna Diana Nurzhanovna** – Graduate Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: kumargalievna.diana@yandex.ru

**Markin Alexei Viktorovich** – Graduate Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: av\_markin@mail.ru

**Matveeva Anna Alexandrovna** – Engineer, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: annamatveeva2008@ya.ru

**Mazhukina Olga Anatolievna** – Associate Professor, Chair of Organic and Bioorganic Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University, Ph. D. E-mail: kumargalievna.diana@yandex.ru

**Monachova Yulia Borisovna** – Research Associate, Institute of Chemistry, Saratov State University. Ph. D. E-mail: yul-monakhova@mail.ru

**Mushtakova Svetlana Petrovna** – Head of General and Inorganic Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University, Doctor of Chemical Sciences. E-mail: mushtakovasp@info.sgu.ru



**Navotnyi Oleg Igorevich** – Applicant, Chair of Physical Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: Volga-dv@yandex.ru

**Nechaeva Olga Viktorovna** – Assistant, Chair of Microbiology, Virology and Immunology, Saratov State Medical University, Ph. D. E-mail: olgav.nechaeva@rambler.ru

**Neveskiy Sergey Alexandrovich** – Associate Professor, Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: biosovet@sgu.ru

**Novgorodova Tatiana Alexandrovna** – Senior Researcher, Institute of Systematics and Ecology of Animals (Novosibirsk), Ph. D. E-mail: tanovg@yandex.ru

**Papchenkov Vladimir Gavrilovich** – Head of Laboratory of Aquatic Vegetation, Institute of Biology of Inland Waters (Borok), Professor, Doctor of Biological Science. E-mail: boldyrevva@info.sgu.ru

**Pavlova Nadezhda Sergeevna** – Master, Biological Department, Saratov State University. E-mail: nadya1818@yandex.ru

**Pleshakova Ekaterina Vladimirovna** – Professor, Chair of Biochemistry and Biophysics, Biological Department, Saratov State University, Doctor of Biological Science. E-mail: plekat@rambler.ru

**Reshetnikova Tatiana Borisovna** – Head of Chair of Methods of Teaching of Biology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: rtb-55@mail.ru

**Reshetov Vyacheslav Alexandrovich** – Professor, Chair of Physical Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University, Doctor of Technical Sciences. E-mail: reshetovva@info.chem.ru

**Revin Viktor Vasilievich** – Head of Chair of Biotechnology, Mordovia State University, Professor, Doctor of Biological Science. E-mail: biotech@moris.ru

**Rodzaevskaya Elena Borisovna** – Professor, Chair of Histology, Saratov State Medical University, Doctor of Biological Science. E-mail: vovatum1983@mail.ru

**Romadenkina Svetlana Borisovna** – Associate Professor, Chair of Petrochemicals and Technological Safety, Institute of Chemistry, Saratov State University, Ph. D. E-mail: romadenkina@yandex.ru

**Rozenberg Gennady Samuilovich** – Director, Institute of Ecology of Volga Basin (Toliatty), Doctor of Biological Science. E-mail: ievbras@mail.ru

**Rusanova Tatyana Yurievna** – Head of Chair of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, Institute of Chemistry, Saratov State University, Doctor of Chemical Science. E-mail: tatyanyarys@yandex.ru

**Ryabinin Artem Sergeevich** – Graduate Student, Institute of Systematics and Ecology of Animals (Novosibirsk). E-mail: artmir777@yandex.ru

**Sazhnev Alexey Sergeevich** – Graduate Student, Biological Department, Saratov State University. E-mail: sazh@list.ru

**Shlyakhtin Gennady Viktorovich** – Dean of Biological Department, Head of Chair of Animals Morphology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Professor, Doctor of Biological Science. E-mail: biofac@sgu.ru

**Shorina Lidia Nikolaevna** – Associate Professor, Chair of Human and Animal Physiology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: vovatum1983@mail.ru

**Shutova Vitalina Viktorovna** – Associate Professor, Chair of Biotechnology, Mordovia State University, Ph. D. E-mail: vshutova@yandex.ru

**Serova Ludmila Alexandrovna** – Head of the Scientific Department, «Hvalynsky National Park». E-mail: laserova@mail.ru

**Smetanina Maria Danilovna** – Associate Professor, Chair of Human and Animal Physiology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: vovatum1983@mail.ru

**Smolkina Yulia Valerievna** – Research Associate, Saratov State University. E-mail: TyrnovVS@info.sgu.ru

**Suetenkov Dmitry Evgenievich** – Head of Chair of Pediatric Dentistry and Orthodontics, Saratov State Medical University, Ph. D. E-mail: suetenkov@gmail.ru

**Tikhovsky Dmitry Alexandrovich** – Applicant, Chair of Physical Chemistry, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: romadenkina@yandex.ru

**Torgaschkova Olga Nikolaevna** – Associate Professor, Chair of Botany and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: torgaschkova88@mail.ru

**Tsikin Alexey Maximovich** – Graduate Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: tsikinalexey@mail.ru

**Tupikin Vladimir Dmitryevich** – Assistant, Chair of Histology, Saratov State Medical University, Ph. D. E-mail: vovatum1983@mail.ru

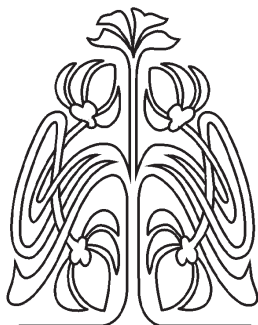
**Tyrnov Valery Stepanovich** – Head of Chair of Genetics, Biological Department, Saratov State University, Professor, Doctor of Biological Science. E-mail: TyrnovVS@info.sgu.ru

**Uvarova Irina Alexandrovna** – Associate Professor, Chair of Histology, Saratov State Medical University, Ph. D. E-mail: iauvarova@yandex.ru

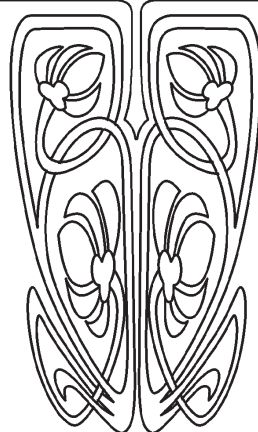
**Vedeneeva Natalia Vladimirovna** – Graduate Student, Saratov State Technical University. E-mail: ecology@sstu.ru

**Voronin Maxim Yurievich** – Associate Professor, Chair of Animals Morphology and Ecology, Biological Department, Saratov State University, Ph. D. E-mail: voroninmj@yandex.ru

**Yurova Nadezhda Sergeevna** – Student, Institute of Chemistry, Saratov State University. E-mail: nad4883@yandex.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.