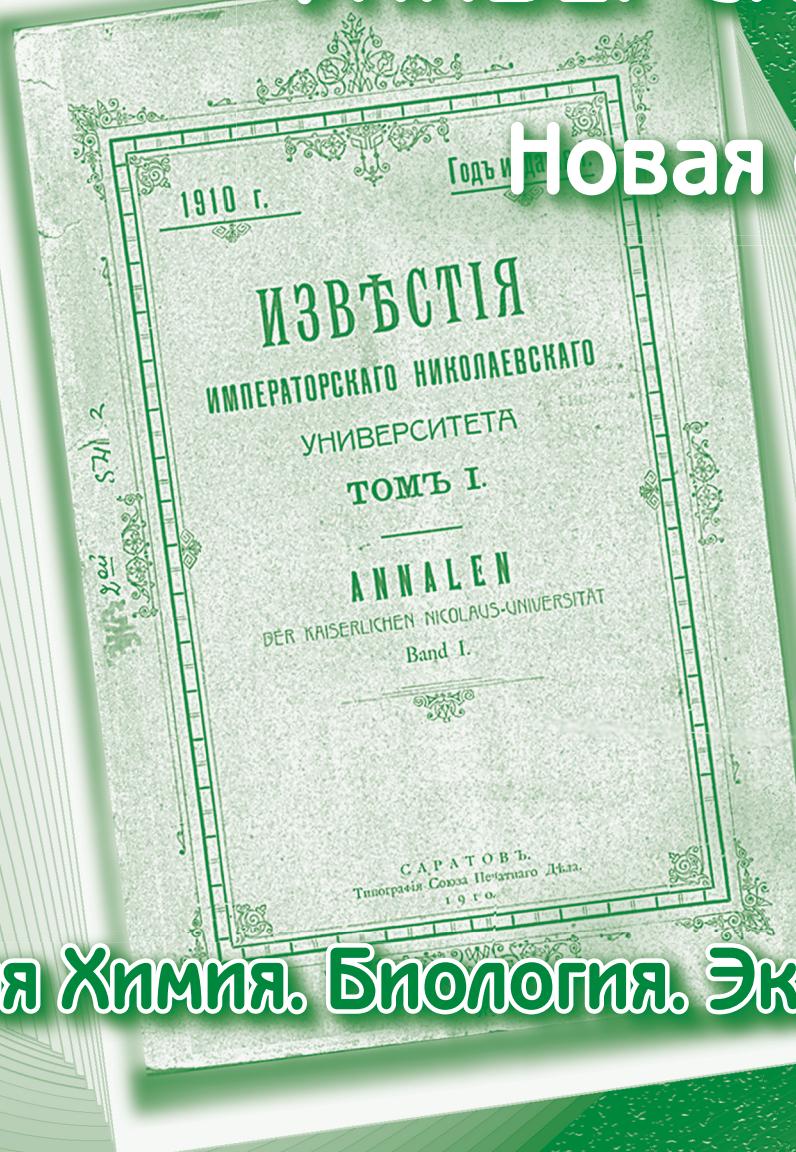


ISSN 1816-9775 (Print)
ISSN 2541-8971 (Online)

ИЗВЕСТИЯ САРАТОВСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Новая серия



Серия Химия. Биология. Экология

2019

Том 19

Выпуск 3



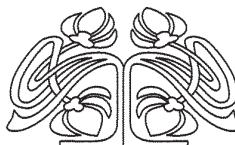
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского»

ИЗВЕСТИЯ

САРАТОВСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА
Новая серия

Серия Химия. Биология. Экология. Выпуск 3

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



Научный журнал

2019 Том 19

ISSN 1816-9775 (Print)

ISSN 2541-8971 (Online)

Издается с 2005 года

СОДЕРЖАНИЕ

Научный отдел

Химия

- Гринёв В. С., Барабанов Н. А., Линькова Е. И., Егорова А. Ю.**
Реакции (трифтор)ацилирования бензопирролоимидазолонов в различных условиях 252
- Силаев Д. В., Шестопалова Н. Б., Фомина Ю. А., Русанова Т. Ю.**
Определение синтетических пищевых красителей Е110 и Е124 при совместном присутствии методами Фирордта и производной спектрофотометрии 257
- Чернова Р. К., Варыгина О. В., Захаревич А. М.** О взаимодействии фосфорномолибденовой кислоты с α -аминокислотами и возможности применения продуктов реакции в ионометрии 268
- Черкасов Д. Г., Ильин К. К.** Апроксимация данных для построения бинодальной кривой фазовых диаграмм некоторых тройных систем соль – вода – изопропиловый (н. пропиловый) спирт 274
- Иванова А. Л., Каневская И. В., Ибрагимова Д. Н., Федотова О. В.**
2-амино-3-формилхромен-4-он как «соединение-платформа» в синтезе гибридных систем под действием N-нуклеофилов 284

Биология

- Хумуд Б. М. Х., Юдакова О. И.** Индукция прямого органогенеза в культуре зрелых зародышей кукурузы 289
- Богослов А. В., Кашин А. С., Шилова И. В., Крицкая Т. А., Пархоменко А. С., Гребенюк Л. В.** Виталитетная структура и онтогенетическая стратегия *Delphinium litwinowii* (Ranunculaceae) 295
- Миронова Н. В., Коробко В. В., Пчелинцева Н. В., Крылатова Я. Г., Жестовская Е. С.** Фитотестиирование (тио)семикарбазонов 2,4-диарилбисцикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов 305
- Шариф А. Е., Абдурашитов А. С., Намыкин А. А., Широков А. А., Лыкова Е. Ю., Саранцева Е. И., Искра Т. Д., Водовозова Е. Л., Хороводов А. С., Терсков А. В., Мамедова А. Т., Аграпович И. М., Климова М. М., Семячкина-Глушковская О. В.** Изменение проницаемости гематоэнцефалического барьера под воздействием громкого звука 312
- Тучина Е. С., Гвоздев Г. А., Кособудский И. Д., Shih W.-C., Тучин В. В.** Антимикробное фотодинамическое воздействие с использованием покрытий на основе наночастиц металлов (Ag, Au) 322
- Борисова С. В., Кузнецова Е. М., Ерохин П. С., Волох О. А.**
Применение нового инструментального метода для оценки функционального состояния клеток *Francisella tularensis* в стрессовых условиях 326
- Шульгина Т. А., Глинская Е. В., Нечаева О. В., Торгашова А. С., Зубова К. В.**
Оценка влияния наночастиц серебра, стабилизированных полимерными соединениями, на выживаемость штаммов *Staphylococcus aureus* 331
- Ермолин В. П.** Коэффициент пополнения промыслового запаса сома от выпуска его молоди навеской 2 грамма в водоемах Волжско-Каспийского рыбхозяйственного бассейна 338
- Тарасов М. А., Поршаков А. М., Казакова Л. В., Кресова У. А., Романов Р. А., Слудский А. А.** Современный кадастр переносчиков и других резервуаров туларемийного микробы в очагах разных типов этой инфекции на территории России 343
- Абрамова Л. М., Мустафина А. Н., Каримова О. А.** Онтогенетическая структура и состояние ценопопуляций реликтового вида *Hedysarum gmelini* Ledeb. в Предуралье Республики Башкортостан 350
- Крицкая Т. А., Кашин А. С., Аникин В. В., Никельшпарг М. И.** Генетический полиморфизм в популяциях *Hieracium × robustum* (Asteraceae) как результат деятельности фитофага-галлообразователя *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae) 357

Экология

- Мулдагалиева Н. С.** Изменение пищевого спектра муравьев рода *Formica* s. str. (Hymenoptera, Formicidae) на территориях Саратовской области с антропогенной нагрузкой 364

Журнал включен в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (специальности: 02.00.02; 02.00.03; 02.00.04; 03.01.02; 03.02.01; 03.02.04; 03.02.05; 03.02.08 (биологические науки))

Зарегистрировано в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор). Запись о регистрации СМИ ПИ № ФС77-76649 от 26 августа 2019 г.

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

Директор издательства
Бучко Ирина Юрьевна

Редактор
Каргин Игорь Анатольевич

Художник
Соколов Дмитрий Валерьевич

Редактор-стилист
Кочкаева Инна Анатольевна

Верстка
Ковалева Наталья Владимировна

Технический редактор
Каргин Игорь Анатольевич

Корректор
Кочкаева Инна Анатольевна

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

Подписано в печать 20.09.19.
Подписано в свет 30.09.19.
Формат 60×84 1/8.
Усл. печ. л. 13,95 (15,0).
Тираж 500 экз. Заказ 106-Т.
Цена свободная

Отпечатано в типографии
Саратовского университета.

Адрес типографии:
410012, Саратов, Б. Казачья, 112А

© Саратовский университет, 2019

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Журнал публикует научные статьи по аналитической химии, органической химии, физической химии, биофизике, биохимии, биотехнологии (в том числе бионанотехнологии), ботанике, зоологии, микробиологии, экологии, энтомологии.

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

Статья должна быть оформлена строго в соответствии с требованиями журнала и тщательно отредактирована.

Для публикации статьи автору необходимо представить в редакцию следующие материалы и документы:

- текст статьи в электронном виде;
- два экземпляра подписанного Лицензионного договора на право использования научного произведения.

Структура подачи материала:

- на русском языке: индекс УДК, название статьи, имена, отчества и фамилии авторов, сведения об авторах (ученая степень, должность, место работы/учебы (структурное подразделение, организация, почтовый адрес), город, страна, e-mail), аннотация, ключевые слова, текст статьи, благодарности и источники финансирования работы (если есть), список литературы;
- на английском языке: название статьи, имена (полностью), отчества и фамилии авторов, сведения об авторах (ORCID, место работы/учебы (организация, почтовый адрес организации), e-mail); аннотация, ключевые слова, благодарности и источники финансирования работы (если есть).

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 150–200 слов;

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

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

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

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

CONTENTS

Scientific Part

Chemistry

- Grinev V. S., Barabanov N. A., Linkova E. I., Yegorova A. Yu.** Trifluoroacetylation of Benzopirrolimidazolons under Various Conditions 252

- Silaev D. V., Shestopalova N. B., Fomina Yu. A., Rusanova T. Yu.** Determination of Synthetic Food Dyes E110 and E124 in the Joint Presence by Vierordt's Method and Derivative Spectrophotometry 257

- Chernova R. K., Varygina O. V., Zakharevich A. M.** On the Interaction of the Phosphoric Molybdenum Acid with the α -Amino Acids and Possible Applications of the Reaction Products in Ionometry 268

- Cherkasov D. G., Il'in K. K.** Data Approximation for Plotting the Binodal Curve on the Phase Diagrams of Some Ternary Salt – Water – Isopropyl (n-Propyl) Alcohol Systems 274

- Ivanova A. L., Kanevskaya I. V., Ibragimova D. N., Fedotova O. V.** 2-amino-3-formilchromen-4-one as "Connection-platform" in the Synthesis of Hybrid Systems under the Action of N-nucleophiles 284

Biology

- Humood B. M. H., Yudakova O. I.** Induction of Direct Organogenesis in the Culture of Mature Embryo in Maize 289

- Bogoslov A. V., Kashin A. S., Shilova I. V., Kritskaya T. A., Parhomenko A. S., Grebenyuk L. V.** Vitality Structure and Ontogenetic Strategy of Delphinium litwinowii (Ranunculaceae) 295

- Mironova N. V., Korobko V. V., Pchelintseva N. V., Krylatova Ya. G., Zhestovskaya E. S.** The Phytotesting of (thio)semicarbazones 2,4-diaryl bicyclo[3.3.1]non-2-en-9-ones 305

- Sharif A. E., Abdurashidov A. S., Namykin A. A., Shirokov A. A., Lykova E. Yu., Sarantseva E. I., Iskra T. D., Vodovozova E. L., Khorovodov A. P., Terskov A. V., Mamedova A. T., Agranovich I. M., Klimova M. M., Semyachkina-Glushkovskaya O. V.** Changes in Blood-Brain Barrier Permeability under the Influence of Loud Sound 312

- Tuchina E. S., Gvozdev G. A., Kosobudskiy I. D., Shih W.-C., Tuchin V. V.** Antimicrobial Photodynamic Effects Using Coatings Based on Metal Nanoparticles (Ag, Au) 322

- Borisova S. V., Kuznetsova E. M., Erokhin P. S., Volokh O. A.** Application of New Instrumental Methods for Evaluation of the Functional State of Cells of *Francisella tularensis* in a Stressful Environment 326

- Shulgina T. A., Glinskaya E. V., Nechaeva O. V., Torgashova A. S., Zubova K. V.** Assessment of the Impact of the Nanoparticles of Silver Stabilized by Polymeric Compounds on Survival of Strains of *Staphylococcus aureus* 331

- Ermolin V. P.** The Coefficient of Replenishment for the Commercial Stock of Catfish from the Release of Its Juvenile by Weighing Batch of 2 Grams in the Reservoirs of the Volga-Caspian Fishery Basin 338

- Tarasov M. A., Porshakov A. M., Kazakova L. V., Kresova U. A., Romanov R. A., Sludsky A. A.** Modern Cadastre of Vectors and Other Reservoirs of Tularemia Microbe Found in Tularemia Foci of Different Types, Situated in the Territory of Russia 343

- Abramova L. M., Mustafina A. N., Karimova O. A.** Ontogenetic Structure and Population Status of the Relict Species of *Hedysarum gmelinii* Ledeb. in the Cis-Urals Republic of Bashkortostan 350

- Kritskaya T. A., Kashin A. S., Anikin V. V., Nikelshparg M. I.** Genetic Polymorphism in Populations of *Hieracium × robustum* (Asteraceae) as Result of the Hallabrottet *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae) Influence 357

Ecology

- Muldagalieva N. S.** Changes in the Food Spectra of Ants of *Formica* s. str. genus (Hymenoptera, Formicidae) in the Territories of the Saratov Region with Anthropogenic Load 364

**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)

Берберова Надежда Титовна, доктор химических наук, профессор (Астрахань, Россия)

Богатырев Владимир Александрович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Гаркушин Иван Кириллович, доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, действительный член РАН (Самара, Россия),

Горбунов Олег Григорьевич, доктор биологических наук, профессор (Москва, Россия)

Горячева Ирина Юрьевна, доктор химических наук, доцент (Саратов, Россия)

Дыкман Лев Абрамович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Ерошенко Галина Александровна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник (Саратов, Россия)

Захаров Владимир Михайлович, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН (Москва, Россия)

Золотухин Вадим Викторович, доктор биологических наук, доцент (Ульяновск, Россия)

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

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

Кулагин Алексей Юрьевич, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ и Республики Башкортостан (Уфа, Россия),

Кулиш Елена Ивановна, доктор химических наук, доцент (Уфа, Россия)

Максимов Георгий Владимирович, доктор биологических наук, профессор (Москва, Россия)

Никитина Валентина Евгеньевна, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Опарин Михаил Львович, доктор биологических наук, профессор (Саратов, Россия)

Позднякова Наталья Николаевна, доктор биологических наук (Саратов, Россия)

Ревин Виктор Васильевич, доктор биологических наук, профессор (Саранск, Россия)

Розенберг Геннадий Самуилович, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН (Тольятти, Россия)

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

Штыков Сергей Николаевич, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Щеголев Сергей Юрьевич, доктор химических наук, профессор (Саратов, Россия)

Юдакова Ольга Ивановна, доктор биологических наук, доцент (Саратов, Россия)

**EDITORIAL BOARD OF THE JOURNAL
«IZVESTIYA OF SARATOV UNIVERSITY. NEW SERIES.
SERIES: Chemistry. Biology. Ecology»**

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

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

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

Members of the Editorial Board:

Vasilii V. Anikin (Saratov, Russia)

Nadezhda T. Berberova (Astrakhan, Russia)

Vladimir A. Bogatyrev (Saratov, Russia)

Ivan K. Garkushin (Samara, Russia)

Oleg G. Gorbunov (Moscow, Russia)

Irina Ju. Goryacheva (Saratov, Russia)

Lev A. Dykman (Saratov, Russia)

Galina A. Eroshenko (Saratov, Russia)

Vladimir M. Zacharov (Moscow, Russia)

Vadim V. Zolotuhin (Ulyanovsk, Russia)

Alexandr S. Kashin (Saratov, Russia)

Svetlana A. Konnova (Saratov, Russia)

Alexey Yu. Kulagin (Ufa, Russia)

Elena I. Kulish (Ufa, Russia)

Georgy V. Maksimov (Moscow, Russia)

Valentina E. Nikitina (Saratov, Russia)

Michail L. Oparin (Saratov, Russia)

Natalia N. Pozdnyakova (Saratov, Russia)

Viktor V. Revin (Saransk, Russia)

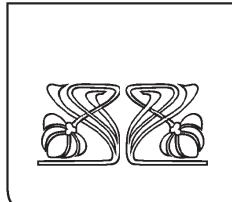
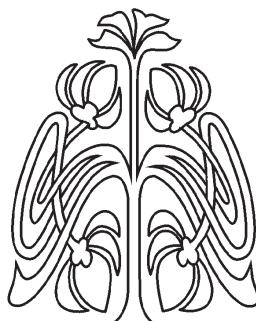
Gennady S. Rozenberg (Tolyatti, Russia)

Anna B. Shipovskay (Saratov, Russia)

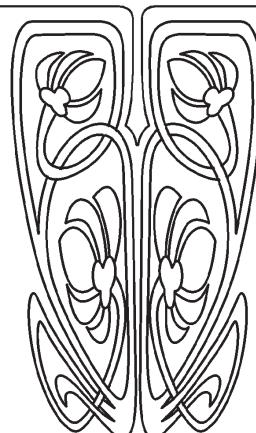
Sergey N. Shtykov (Saratov, Russia)

Sergey Ju. Shchygolev (Saratov, Russia)

Olga I. Yudakova (Saratov, Russia)



**РЕДАКЦИОННАЯ
КОЛЛЕГИЯ**



ХИМИЯ

УДК 547.415.1'435.1'484.2'745.04:543.422.25

Реакции (трифтор)ацилирования бензопирролоимидазолонов в различных условиях

В. С. Гринёв, Н. А. Барабанов, Е. И. Линькова, А. Ю. Егорова

Гринёв Вячеслав Сергеевич, кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биоорганической химии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского; старший научный сотрудник лаборатории биохимии, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, grinev@ibppm.ru

Барабанов Никита Александрович, студент 4-го курса Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, nek_bar@hotmail.com

Линькова Елена Ивановна, аспирант кафедры органической и биоорганической химии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, alenaj2006@rambler.ru

Егорова Алевтина Юрьевна, доктор химических наук, профессор кафедры органической и биоорганической химии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, yegorovaay@gmail.com

Введение (трифтор)ацетильного фрагмента в различные гетероциклы позволяет варьировать их физико-химические свойства, изменять характер и степень проявления биологической активности, а также проводить дальнейшие химические превращения. Вместе с тем современные методы органической химии направлены, в том числе, на увеличение эффективности известных и широко применяемых химических реакций и возможность направления по другим путям при проведении синтеза в условиях, отличных от классических. В настоящем исследовании реакции (трифтор)ацетилирования За-арилзамещенных бензопирролоимидазолонов проведены при нагревании в соответствующем ацилирующем агенте как в классических условиях термического нагрева, так и в реакторе Monowave 50 в герметичном сосуде. Показано, что (трифтор)ацетилирование бензопирролоимидазолонов в изученных условиях проходит по вторичной аминогруппе, не затрагивая другие возможные реакционные центры. Структуры полученных соединений доказаны с помощью совокупности данных ИК, ЯМР ^1H , ^{13}C спектроскопии. Отмечено, что способ синтеза с применением техники герметичных сосудов более предпочтителен, так как позволяет получать продукты за более короткое время, с меньшим расходом растворителей и с более высоким выходом.

Ключевые слова: (трифтор)ацетилирование, ацилирование, бензопирролоимидазолоны, вторичная аминогруппа, классические условия нагрева, нагрев в герметичном сосуде.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-252-256>

Введение

Реакции ацилирования ароматических аминов часто используются для защиты аминогруппы [1, 2]. Введение (трифтор)ацетильного фрагмента в различные гетероциклические системы позволяет варьировать их физико-химические свойства с целью, в том числе, увеличения биодоступности для различных организмов [3, 4], может



приводить к появлению новых видов активности [5], а также проводить дальнейшие химические превращения [6]. В последнее время модификация (трифтор)ацилированием получила широкое распространение для синтеза различных гетероциклических соединений, в частности была применена для получения дibenз[*c,e*]азепинов путем внутримолекулярного прямого арилирования с переносом хиральности [7], а также получения 3-амино- и 3-нитро-2,3-дидеоксисахаров [8].

В настоящее время активно ведутся исследования, направленные на увеличение эффективности различных реакций, позволяющих получать биологически активные молекулы с более высоким выходом в более мягких условиях. Использование реактора Monowave 50, работающего с герметично закрытыми сосудами, позволяет добиться эффективности синтеза, близкой к микроволновой активации [9].

Материалы и методы

Реакции в условиях герметичных сосудов проводились в реакторе Monowave 50 (Anton Paar, Австрия). Элементный анализ проводился на CHNS-анализаторе Elementar Vario Micro cube (Elementar Analysensysteme GmbH, Германия). ИК спектры снимали на ИК фурье-спектрометре Nicolet 6700 (Thermo Scientific, США) в таблетках KBr. Спектры ЯМР ^1H (400 МГц) и ^{13}C (100 МГц) регистрировались на спектрометре Varian 400 (Varian, США) в CDCl_3 или $\text{DMSO}-d_6$, внутренний стандарт – ТМС. Однородность соединений подтверждалась методом ТХС на пластинках Alugram® Sil G UV254 (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Германия), элюент – этилацетат – гексан – хлороформ (2 : 2 : 1); проявляли в УФ свете (длина волны 254 нм).

*4-Ацетил-3-а-фенил-2,3,3а,4-тетрагидро-1Н-бензо[*d*]пирроло[1,2-*a*]имидазол-1-он (1а).*

Метод А. В круглодонную колбу объемом 50 мл, снабженную обратным холодильником, помещают 0.5 г (2 ммоль) 3-а-фенил-2,3,3а,4-тетрагидро-1Н-бензо[*d*]пирроло[1,2-*a*]имидазол-1-она, приливают 15 мл ледяной уксусной кислоты либо 10 мл трифторуксусного ангидрида и 5 мл трифторуксусной кислоты. Реакционную смесь нагревают в течение 1–2 ч, после охлаждения нейтрализуют насыщенным водным раствором соды, выпавший осадок отфильтровывают, перекристаллизовывают из этанола.

Метод Б. В герметичную виалу из борсилкатного стекла, снабженную фторопластовой септой и силиконовой крышкой, помещают 0.1 г (0.4 ммоль) 3-а-фенил-2,3,3а,4-тетрагидро-

1Н-бензо[*d*]пирроло[1,2-*a*]имидазол-1-она, 1.5 мл ледяной уксусной кислоты либо 1 мл трифторуксусного ангидрида и 0.5 мл трифторуксусной кислоты и нагревают в реакторе Monowave 50 при температуре 150° С в течение 2 мин. После охлаждения реакционную смесь нейтрализуют насыщенным водным раствором соды, выпавший осадок отфильтровывают, перекристаллизовывают из этанола.

Метод А: выход 0.44 г (75%); метод Б: выход 0.09 г (80%), светло-бежевые кристаллы, т. пл. 149–150° С. ИК спектр, см^{-1} : 1688 (C=O, Амид I), 1642 ($\text{CH}_3\text{C=O}$, Амид I). ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.15 с (3Н, Ac), 2.71 т (2Н, CH_2 , J 4 Гц), 3.40 т (2Н, CH_2 , J 4 Гц), 7.06–8.26 м (9Н, Ar). ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 24.0 (Ac, CH_3), 30.6 (CH_2), 34.0 (CH_2), 85.8 ($\text{C}_{\text{четв}}$), 124.8–136.3 (Ar), 169.7 (Ac, C=O), 171.7 (C=O). Найдено, %: С 73.49; Н 5.29; N 9.79. $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: С, 73.95; Н, 5.52; N, 9.58.

Аналогично получают соединения **1b-d**.

*4-Ацетил-3-а-(*n*-толил)-2,3,3а,4-тетрагидро-1Н-бензо[*d*]пирроло[1,2-*a*]имидазол-1-он (1b).*

Метод А: выход 0.42 г (69%); метод Б: выход 0.09 г (73%), светло-бежевые кристаллы, т.пл. 200–202° С. ИК спектр, см^{-1} : 1687 (C=O, Амид I), 1644 ($\text{CH}_3\text{C=O}$, Амид I). ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.22 с (3Н, Ac), 2.31 с (3Н, CH_3), 2.77 т (2Н, CH_2 , J 4 Гц), 3.45 т (2Н, CH_2 , J 4 Гц), 7.11–8.15 м (8Н, Ar). ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 21.7 (CH_3), 24.2 (Ac, CH_3), 30.8 (CH_2), 34.1 (CH_2), 83.8 ($\text{C}_{\text{четв}}$), 124.6–129.4 (Ar), 170.1 (Ac, C=O), 171.2 (C=O). Найдено, %: С 74.27; Н 5.68; N 9.31. $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: С, 74.49; Н, 5.92; N, 9.14.

*4-(2,2,2-Трифторацетил)-3-а-фенил-2,3,3а,4-тетрагидро-1Н-бензо[*d*]пирроло[1,2-*a*]имидазол-1-он (1c).*

Метод А: выход 0.50 г (72%); метод Б: выход 0.11 г (82%), светло-бежевые кристаллы, т. пл. 138–142° С. ИК спектр, см^{-1} : 1716 ($\text{CF}_3\text{C=O}$), 1685 (C=O, Амид I). ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.05 м (2Н, CH_2), 3.79 м (2Н, CH_2), 7.18–7.63 м (9Н, Ar). ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 29.2 (CH_2), 35.8 (CH_2), 92.1 ($\text{C}_{\text{четв}}$), 116.6 кв ($J_{\text{C-F}} = 290$ Гц, CF_3), 125.8–132.3 (Ar), 155.0 кв ($J_{\text{C-F}} = 37$ Гц, CF_3CO), 173.6 (C=O). Найдено, %: С 62.23; Н 3.73; N 8.13. $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: С, 62.43; Н, 3.78; N, 8.09.

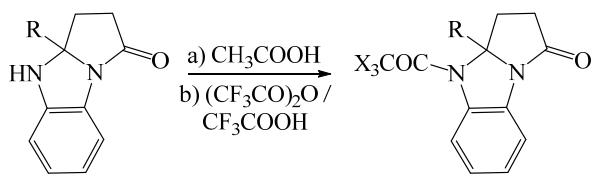
*4-(2,2,2-Трифторацетил)-3-а-(*n*-толил)-2,3,3а,4-тетрагидро-1Н-бензо[*d*]пирроло[1,2-*a*]имидазол-1-он (1d).*

Метод А: выход 0.48 г (67%); метод Б: выход 0.10 г (73%), светло-бежевые кристаллы, т. пл. 188–192° С. ИК спектр, см^{-1} : 1718 ($\text{CF}_3\text{C=O}$), 1686 (C=O, Амид I). ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.04 м (2Н,

CH₂), 2.27 с (3H, CH₃), 3.77 м (2H, CH₂), 7.08–7.65 м (8H, Ar). ЯМР ¹³C, δ, м.д.: 20.5 (CH₃), 28.8 (CH₂), 35.7 (CH₂), 91.8 (C_{четв.}), 116.5 кв (J_{C-F} = 290 Гц, CF₃), 125.7–140.7 (Ar), 162.1 кв (J_{C-F} = 37 Гц, CF₃CO), 173.6 (C=O). Найдено, %: C 63.56; H 4.53; N 7.56. C₁₉H₁₅F₃N₂O₂. Вычислено, %: C, 63.33; H, 4.20; N, 7.77.

Результаты и их обсуждение

Реакции (трифтор)ацетилирования нами проведены как в классических условиях, при нагревании в соответствующей кислоте, так и в реакторе Monowave 50 (герметичный сосуд). В обоих случаях ацилирующим агентом служили ледяная уксусная кислота либо трифторуксусный ангидрид. После проведения синтеза реакционную смесь нейтрализовали насыщенным раствором соды, в результате были выделены кристаллические вещества светлой окраски, которые по совокупности данных элементного анализа, ИК, ЯМР ¹H и ¹³C спектроскопии были охарактеризованы как 4-ацетил- (**1a,b**) и 4-(2,2,2-трифторацетил)-3-а-арил-2,3,3а,4-тетрагидро-1H-бензо[*d*]пирроло[1,2-*a*]имидазол-1-оны (**1c,d**):



Следует отметить, что строение получаемых продуктов **1a-d** не зависело от способа синтеза, что подтверждалось идентичностью их физико-химических и спектральных характеристик. Тем не менее способ синтеза с применением техники герметичных сосудов позволяет получать продукты за более короткое время, с меньшим расходом растворителей и с несколько более высоким выходом (67–75% в классических условиях и 73–82% в реакторе Monowave 50) (таблица).

Время проведения реакций и выходы продуктов

The Reaction Time and Yields of the Products

Вещество / Product	Метод А / Method A		Метод Б / Method B	
	Время, мин / Time, min	Выход, % / Yield, %	Время, мин / Time, min	Выход, % / Yield, %
1a		75		80
1b	120–180	69	2	73
1c		72		82
1d		67		73

В литературе [3] известны реакции ацилирования трифторуксусным ангидридом индолохалконов с участием ароматического кольца, активность ароматического фрагмента изучаемых соединений в реакциях с электрофильными агентами подтверждена также образованием продуктов алкилирования и азосочетания с солями диазония [10]. Этот факт дает основание не исключать возможности ацилирования бензопирролонового фрагмента.

Спектральные характеристики свидетельствуют о том, что вне зависимости от выбранных условий проведения синтеза ацилирование проходит по вторичной аминогруппе исходных бензопирролоимидазолонов подобно ароматическим аминам [1, 2], не затрагивая ароматические кольца.

В ИК спектрах полученных соединений **1a-d** отсутствуют полосы поглощения NH-групп. Отмечены полосы поглощения «Амид I», соответствующие колебаниям карбонильной группы лактамного фрагмента при 1685–1688 cm^{-1} , в области 1642–1644 cm^{-1} наблюдается полоса поглощения, которая обусловлена колебаниями карбонильной группы ацильного фрагмента, связанного с третичным азотом (**1a,b**), а в области 1716–1718 cm^{-1} наблюдается резонансное поглощение, связанное с валентными колебаниями карбонильной группы трифторацетильного фрагмента (**1c,d**).

В ЯМР ¹H спектрах для соединений **1a,b** отмечены синглеты протонов ацильного фрагмента при 2.15–2.22 м.д., а также исчезновение сигнала протона вторичной аминогруппы по сравнению со спектрами исходных соединений [11] для всех синтезированных соединений **1a-d**. Кроме того, в спектрах имеются мультиплетные сигналы протонов метиленовых звеньев пирролидонового фрагмента молекулы при 2.04–2.77 и 3.40–3.79 м.д., в области 7.06–8.26 находятся сигналы протонов ароматических колец. Для соединений **1b,d** отмечен синглет метильной группы *n*-толильного заместителя в положении 3а при 2.27–2.31 м.д.

В спектрах ЯМР ¹³C соединений **1a,b** отмечены характеристические сигналы атомов углерода метильной группы ацильного фрагмента при 24.0–24.2 м.д. для соединений атома углерода карбонильной группы ацильного фрагмента при 169.7–170.1 м.д. Для соединений **1c,d** в связи с наличием в структуре сильной электроотрицательной группы сигналы атомов углерода в составе трифторметильного фрагмента значительно смещены в слабое поле и проявляются в спектрах в виде квадруплетов при 116.5–116.6 м.д. с КССВ



$J_{\text{C-F}}$ 290 Гц. При 155.0–162.1 м.д. с КССВ $J_{\text{C-F}}$ 37 Гц отмечены квадруплеты карбонильных атомов углерода трифтторацетильных заместителей. Для всех соединений **1a-d** в спектрах ЯМР ^{13}C имеются слабоинтенсивные сигналы четвертичных атомов углерода в диапазоне 88.4–92.1 м.д. Атомы углерода карбонильной группы пирролонового фрагмента резонируют при 171.2–173.6 м.д. Для соединений **1b,d** отмечены сигналы атомов углерода метильной группы *n*-толильного заместителя в положении 3а при 20.5–21.7 м.д.

Таким образом, показано, что в случае модификации конденсированных гетероциклических систем, содержащих вторичную аминогруппу, с помощью реакций (трифттор)ацилирования более предпочтителен, по сравнению с классическим методом, способ синтеза с применением техники герметичных сосудов, что позволяет проводить реакцию за более короткое время, с меньшим расходом растворителей и с более высоким выходом, что выгодно отмечает предложенный метод.

Список литературы

1. Lopez S. E., Perez Y., Retrepo J., Salazar J., Charris J. Trifluoroacetylation of arylamines using poly-phosphoric acid trimethylsilylester (PPSE) // *J. Fluor. Chem.* 2007. Vol. 128. P. 566–569. DOI: 10.1016/j.jfluchem.2007.03.003
2. Kim J.-G., Jang D. O. Trifluoroacetylation of amines with trifluoroacetic acid in the presence of trichloroacetonitrile and triphenylphosphine // *Tetrahedron Letters.* 2010. Vol. 51. P. 683–685. DOI: 10.1016/j.tetlet.2009.11.105
3. Mphahlele M. J., Maluleka M. M. Trifluoroacetylation of indole-chalcones derived from the 2-amino-3-(arylethynyl)-5-bromo-iodochalcones // *J. Fluor. Chem.* 2016. Vol. 189. P. 88–95.
4. Bassetto M., Ferla S., Pertusati F. Polyfluorinated groups in medicinal chemistry // *Future Med. Chem.* 2015. Vol. 7. P. 527–546. DOI: 10.4155/FMC.15.5
5. Osyanin V. A., Popova Y. V., Sakhnenko D. V., Klimochkin Yu. N. The rearrangement of trifluoroacetylchromenes to trifluoromethylchromenols // *Chem. Heterocycl. Comp.* 2016. Vol. 52. P. 559–563. DOI: /10.1007/s10593-016-1931-6
6. Usachev B. I. 1-/2-/3-Fluoroalkyl-Substituted Indoles, Promising Medicinally and Biologically Beneficial Compounds: Synthetic Routes, Significance and Potential Applications // *J. Fluor. Chem.* 2016. Vol. 185. P. 118–167. DOI: 10.1016/j.jfluchem.2016.02.006
7. Cheetham C. A., Massey R. S., Pira S. L. Atroposelective formation of dibenz[*c,e*]azepines via intramolecular direct arylation with centre-axis chirality transfer // *Org. Biomol. Chem.* 2011. Vol. 9. P. 1831–1838. DOI: 10.1039/C0OB00889C
8. Ding F., Cai S., William R., Liu X. Pathways leading to 3-amino- and 3-nitro-2,3-dideoxy sugars: strategies and synthesis // *RSC Adv.* 2013. Vol. 3. P. 13594–13621. DOI: 10.1039/C3RA40595H.
9. Qureshi S., Ahmad E., Pant K. K., Dutta S. Insights into the metal salt catalyzed ethyl levulinate synthesis from biorenewable feedstocks // *Catalysis Today.* 2017. Vol. 291. P. 187–194. DOI: 10.1016/j.cattod.2016.12.019
10. Grinev V. S., Babkina N. V., Yegorova A. Yu. (E)-7-[(4-Nitrophenyl)diazenyl]-3a-(*p*-tolyl)-2,3,3a,4-tetrahydro-1H-benzo[*d*]pyrrolo[1,2-*a*]imidazol-1-one 0.58-dimethyl sulfoxide 0.42-acetonitrile solvate: crystal structure, Hirshfeld analysis and DFT estimation of the energy of intermolecular interactions // *Acta Cryst. Sect. E.* 2017. Vol. 73. P. 1590–1594. DOI: 10.1107/S2056989017013937
11. Grinev V. S., Amal'chieva O. A., Yegorova A. Yu., Lyubun' E. V. Reaction of 4-Oxocarboxylic Acids and 5-Substituted 3H-Furan-2-ones with 1,2-Binucleophiles of Aromatic and Alicyclic Series // *Russian Journal of Organic Chemistry.* 2010. Vol. 46, № 9. P. 1378–1382. DOI: 10.1134/S1070428010090198.

Образец для цитирования:

Гринёв В. С., Барабанов Н. А., Линькова Е. И., Егорова А. Ю. Реакции (трифттор)ацилирования бензопирролоимидазолов в различных условиях // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 252–256. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-252-256>

Trifluoroacetylation of Benzopirrolimidazolons under Various Conditions

V. S. Grinev, N. A. Barabanov,
E. I. Linkova, A. Yu. Yegorova

Vyacheslav S. Grinev, <https://orcid.org/0000-0002-0627-6804>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia; Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, 13 Ave. Entuziastov, Saratov 410049, Russia, grinev@ibppm.ru

Nikita A. Barabanov, <https://orcid.org/0000-0002-3264-114X>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, nek_bar@hotmail.com

Elena I. Linkova, <https://orcid.org/0000-0001-9925-2897>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, alenaji2006@rambler.ru

Alevtina Yu. Yegorova, <https://orcid.org/0000-0002-4368-0021>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, yegorovaay@gmail.com

The introduction of the (trifluoro)acetyl moiety into different heterocycles allows one to vary their physicochemical properties, change the nature and magnitude of biological activity, and also to carry out further chemical transformations. At the same time, modern methods of organic chemistry are aimed, *inter alia*, at increasing the efficiency of known and widely used chemical reactions and the possibility of directing along other paths when conducting syntheses under conditions, which are different from the classical ones. The reactions (trifluoro)acetylation of 3a-aryl-substituted benzopyrroloimidazolones in this study were carried out under classical conditions, when heated in an appropriate acylating agent, as well as in a Monowave 50 reactor in a sealed vessel. The (trifluoro)acetylation of benzopyrroloimidazolones at elevated pressure and temperature in the absence of a catalyst is directed to the secondary amino group, as is in the case when using classical thermal heating conditions. The structures of the obtained compounds were proved using the set of IR, ¹H, ¹³C NMR spectroscopy data. It has been noted that the method of synthesis using the technique of sealed vessels is more preferable, since it allows one to obtain products in shorter time, with less solvent consumption and with higher yield.

Keywords: trifluoroacetylation, acylation, benzopyrroloimidazolones, secondary amino group, classical conditions of heating, heating in a sealed vessel.

References

1. Lopez S. E., Perez Y., Retrepo J., Salazar J., Charris J. Trifluoroacetylation of arylamines using polyphosphoric acid trimethylsilylester (PPSE). *J. Fluor. Chem.*, 2007, vol. 128, pp. 566–569. DOI: 10.1016/j.jfluchem.2007.03.003
2. Kim J.-G., Jang D. O. Trifluoroacetylation of amines with trifluoroacetic acid in the presence of trichloroacetonitrile and triphenylphosphine. *Tetrahedron Letters*, 2010, vol. 51, pp. 683–685. DOI: 10.1016/j.tetlet.2009.11.105
3. Mphahlele M. J., Maluleka M. M. Trifluoroacetylation of indole-chalcones derived from the 2-amino-3-(arylethynyl)-5-bromo-iodochalcones. *J. Fluor. Chem.*, 2016, vol. 189, pp. 88–95.
4. Bassetto M., Ferla S., Pertusati F. Polyfluorinated groups in medicinal chemistry. *Future Med. Chem.*, 2015, vol. 7, pp. 527–546. DOI: 10.4155/FMC.15.5
5. Osyanin V. A., Popova Y. V., Sakhnenko D. V., Klimochkin Yu. N. The rearrangement of trifluoroacetylchromenes to trifluoromethylchromenols. *Chem. Heterocycl. Comp.*, 2016, vol. 52, pp. 559–563. DOI: 10.1007/s10593-016-1931-6
6. Usachev B. I. 1-/2-/3-Fluoroalkyl-Substituted Indoles, Promising Medicinally and Biologically Beneficial Compounds: Synthetic Routes, Significance and Potential Applications. *J. Fluor. Chem.*, 2016, vol. 185, pp. 118–167. DOI: 10.1016/j.jfluchem.2016.02.006
7. Quereshi S., Ahmad E., Pant K. K., Dutta S. Insights into the metal salt catalyzed ethyl levulinate synthesis from biorenewable feedstocks. *Catalysis Today*, 2017, vol. 291, pp. 187–194. DOI: 10.1016/j.cattod.2016.12.019
8. Ding F., Cai S., William R., Liu X. Pathways leading to 3-amino- and 3-nitro-2,3-dideoxy sugars: strategies and synthesis. *RSC Adv.*, 2013, vol. 3, pp. 13594–13621. DOI: 10.1039/C3RA40595H
9. Quereshi S., Ahmad E., Pant K. K., Dutta S. Insights into the metal salt catalyzed ethyl levulinate synthesis from biorenewable feedstocks. *Catalysis Today*, 2017, vol. 291, pp. 187–194. DOI: 10.1016/j.cattod.2016.12.019
10. Grinev V. S., Babkina N. V., Yegorova A. Yu. (E)-7-[(4-Nitrophenyl)diazenyl]-3a-(p-tolyl)-2,3,3a,4-tetrahydro-1H-benzo[d]pyrrolo[1,2-a]imidazol-1-one 0.58-dimethyl sulfoxide 0.42-acetonitrile solvate: crystal structure, Hirshfeld analysis and DFT estimation of the energy of intermolecular interactions. *Acta Cryst. Sect. E*, 2017, vol. 73, pp. 1590–1594. DOI: 10.1107/S2056989017013937
11. Grinev V. S., Amal'cheva O. A., Egorova A. Yu., Lyubun' E. V. Reaction of 4-Oxocarboxylic Acids and 5-Substituted 3H-Furan-2-ones with 1,2-Binucleophiles of Aromatic and Alicyclic Series. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 2010, vol. 46, no. 9, pp. 1378–1382. DOI: 10.1134/S1070428010090198

Cite this article as:

Grinev V. S., Barabanov N. A., Linkova E. I., Yegorova A. Yu. Trifluoroacetylation of Benzopirroloimidazolones under Various Conditions. *Izv. Saratov Univ. (N. S.)*, Ser. Chemistry. Biology. Ecology, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 252–256 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-252-256>



УДК 543.422.3

Определение синтетических пищевых красителей Е110 и Е124 при совместном присутствии методами Фирордта и производной спектрофотометрии

Д. В. Силаев, Н. Б. Шестопалова, Ю. А. Фомина, Т. Ю. Русанова



Силаев Дмитрий Владимирович, химик-эксперт лаборатории по исследованию и контролю качества лекарственных средств, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского Минздрава России; аспирант кафедры аналитической химии и химической экологии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, sil_diman@mail.ru

Шестопалова Наталья Борисовна, кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры общей, биоорганической и фармацевтической химии, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского Минздрава России, shestopalovanb@yandex.ru

Фомина Юлия Андреевна, кандидат химических наук, начальник лаборатории по исследованию и контролю качества лекарственных средств, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского Минздрава России, fominaya@mail.ru.

Русанова Татьяна Юрьевна, доктор химических наук, заведующий кафедрой аналитической химии и химической экологии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, tatyaranys@yandex.ru

Оценены возможности методов Фирордта и первой производной при «нулевом пересечении» для определения содержания синтетических пищевых красителей Желтый «солнечный закат» (Е110) и Понсо 4R (Е124) при совместном присутствии в модельных растворах. Установлен диапазон концентраций компонентов, при котором соблюдается принцип аддитивности оптических плотностей. Для реализации метода Фирордта подобраны длины волн с максимальным различием коэффициентов поглощения отдельных компонентов (470.2 и 536.7 нм). Изучено влияние шага дифференцирования при разной концентрации красителей на величину первой производной, соответствующей максимуму поглощения в спектре нулевого порядка. Определены

значения «нулевых пересечений» первых производных спектров поглощения индивидуальных соединений при оптимальном шаге дифференцирования $\Delta\lambda = 2$ нм, которые составили для Е110 и Е124 482.5 нм и 507 нм соответственно. Установлено, что погрешность определения индивидуальных красителей методом производной спектрофотометрии ниже, чем методом Фирордта. Правильность определения красителей методом Фирордта варьировала для Е110 от 102 до 105%, для Е124 – от 93 до 107%. Правильность определения с помощью метода первой производной при «нулевом пересечении» для Е110 от 98 до 101%, Е124 – от 96 до 103%.

Ключевые слова: синтетические пищевые красители, Желтый «солнечный закат», Понсо 4R, метод Фирордта, производная спектрофотометрия.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-257-267>

Синтетические красители (СК) широко применяются как в пищевой, так и в фармацевтической отрасли. Их содержание в производимой продукции не должно превышать установленных норм [1], поскольку «доза» и способ употребления играют роль в проявлении различных аллергических реакций, гиперактивности и снижении внимания у детей. Постоянно проводимые токсико-гигиенические исследования красителей позволяют расширить информацию о рисках применения этих соединений в продуктах питания и фармацевтических препаратах [2]. В составе продукции СК могут использоваться как индивидуально, так и в виде смесей, позволяя получать цвета и оттенки, невозможные при применении натуральных красителей. Чаще всего используются двухкомпонентные смеси (рис. 1).

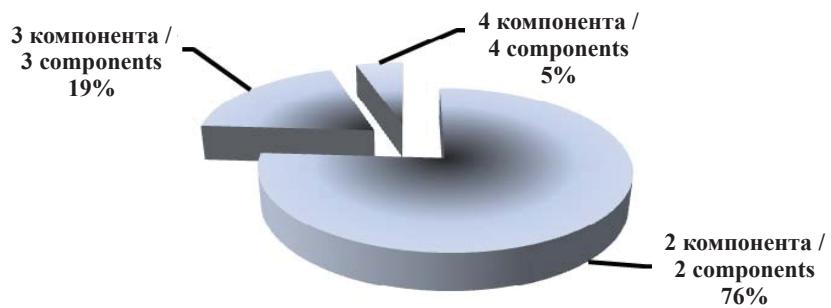


Рис. 1. Распределение смесевых композиций красителей по числу компонентов в их составе (по Е. В. Смирнову [3])

Fig. 1. Distribution of mixed dyes compositions by the number of components (according to E. V. Smirnov [3])

Следует отметить, что в состав смесевых красителей входят соединения не только различных химических классов, но и отличающиеся санитарно-гигиеническими показателями, т. е. имеющие разную степень воздействия на организм. Другой отличительной особенностью смесевых красителей является большой диапазон соотношения индивидуальных компонентов.

Для контроля содержания СК применяются различные методы анализа, среди которых спектрофотометрия занимает одно из ведущих мест [4]. Это простой, аппаратурно оснащенный и экономически доступный метод для определения как индивидуальных соединений, так и многокомпонентных смесей с применением разных подходов (производная спектрофотометрия, хемометрические алгоритмы) (рис. 2).

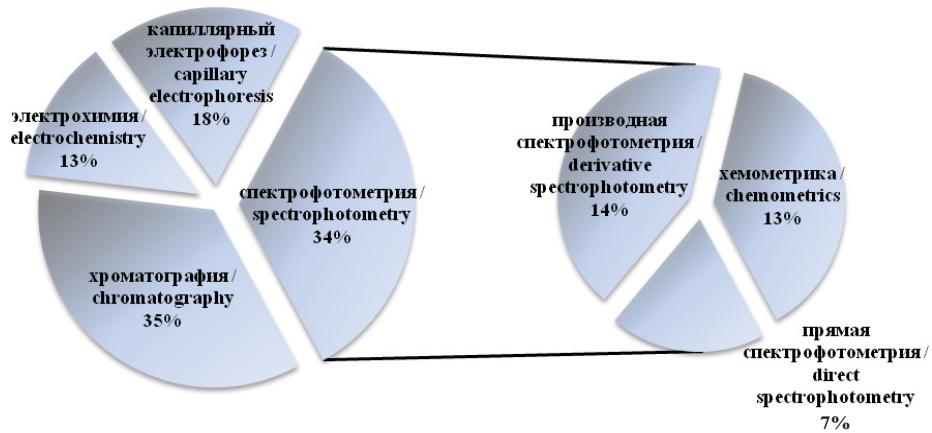


Рис. 2. Распределение работ по методам определения синтетических пищевых красителей
(по данным Н. Б. Шестопаловой [4])

Fig. 2. The distribution of works by the methods of the synthetic food dyes determination (according to N. B. Shestopalova [4])

Одним из классических подходов количественного спектрофотометрического анализа двухкомпонентных смесей является метод Фирордта, основанный на решении системы уравнений [5]. Широкое практическое применение его ограничивается сложностью выбора аналитических длин волн при обязательном выполнении закона Бугера – Ламберта – Бера и соблюдении принципа аддитивности оптических плотностей компонентов в смеси. Погрешность определения индивидуальных компонентов также зависит и от их соотношения [6]. Анализ работ по определению СК показал, что метод Фирордта применяли для ограниченного числа бинарных смесей Е102 и Е124 [7], Е132 и Е124 [8], различающихся положением максимума поглощения на 81 и 103 нм соответственно.

Современными методами математической обработки спектров поглощения являются различные хемометрические алгоритмы (метод проекции на латентные структуры, метод множественной линейной регрессии), которые требуют навыков обработки экспериментальных данных в специальных программах [6, 9–11].

В случае сильно перекрывающихся спектральных полос применяются производные от

спектров поглощения по длине волн. При выполнении основного закона светопоглощения и условия аддитивности *n*-производная оптической плотности прямо пропорциональна концентрации компонента. На практике чаще используют производные первого и второго порядка [12], графические преобразования спектров поглощения проводят с помощью как определенных алгоритмов [13], так и программного обеспечения спектрофотометра [14].

Для анализа двухкомпонентных смесей СК, спектры поглощения которых значительно перекрываются, предложен один из вариантов производной спектрофотометрии, в котором аналитическими длинами волн являются значения «нулевого пересечения» с осью абсцисс первых производных спектров поглощения компонентов (табл. 1). При однократном дифференцировании такое «нулевое пересечение» соответствует максимуму поглощения компонента в исходном спектре нулевого порядка. При этом значение производной оптической плотности пропорционально концентрации другого компонента, у которого это значение отлично от нуля.

Литературные данные о применении производной спектрофотометрии при «нулевом пересечении» для определения СК в бинарных смесях

Literary Data on the Application of Derivative Spectrophotometry with “Zero Crossing” to Determine the Synthetic Dyes in Binary Mixtures

СК / SD	λ_{\max} , нм / λ_{\max} , nm	Длина волны «нулевого пересечения», нм / The wavelength of «zero crossing», nm	Шаг дифференцирования, $\Delta\lambda$ /Step of differentiation, $\Delta\lambda$	Правильность, % (S_r , %) / Correctness, % (S_r , %)	Литература / Literature
E110 E124	486 507	480.3 510.7	2	(5) (5)	[10]
E110 E124	486 507	486 507	20	99.7–102.2 92.0–103.0	[15]
E110 E102	486 527	486 539.5	20	99.7–102.2 93.9–103.3	[15]
E110 E127	486 526	482.7 526.3	2	105.8 102.8	[16]
E110 E102	486 427	482.7 526.3; 538	8	96–105; 96–101; 99–124	[17]
E110 E101	482 445	481.7 448.5	2	102 101	[18]
E110 E102	486 427	484.5 427	4	(0.9) (1)	[19]
E110 E127	486 526	480.9 525.4	—	94.8–102.8 99.2–100.6	[20]
E132 E124	610 507	507 610	10	94–104 90–97	[21]
E131 E122	640 515	640 515	20	95.2–124 103.8–117.6	[22]

Как видно из приведенных данных, длина волны «нулевого пересечения» не всегда совпадает со значением максимума поглощения определяемого компонента. Так, например, для красителя Е110 значение «нулевого пересечения» варьирует от 480.3 до 486 нм, а для Е124 – от 507 до 510.7 нм. Другой параметр получения производной спектра – шаг дифференцирования ($\Delta\lambda$) – также варьируется в достаточно широких пределах от 2 до 20 нм. Недостаточно ясно, как эти параметры отражаются на погрешности определения.

В связи с этим целью работы явилась оценка возможностей применения методов Фирордта и производной спектрофотометрии при «нулевом пересечении» для определения синтетических пищевых красителей Желтый «солнечный закат» (Е110) и Понко 4R (Е124) при совместном присутствии в модельных водных растворах.

Материалы и методы

В работе использовали синтетические пищевые красители Желтый «солнечный закат» (Е110) и Понко 4R (Е124) фирмы «Sigma-Aldrich». Исходные водные растворы красителей с концентрацией 100 мг/л готовили растворением точной навески в дистиллированной воде с учетом массовой доли

основного вещества. Рабочие растворы с концентрацией 2.0–20.0 мг/л, полученные разбавлением исходных тем же растворителем, использовали для построения градуировочных зависимостей и приготовления модельных смесей. Концентрации индивидуальных красителей в модельных смесях составляли 2.0; 8.0; 14.0; 20.0 мг/л. Состав смесей подбирали с учетом значения оптических плотностей полученных растворов в диапазоне 0.2–1.4.

Электронные спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре SHIMADZU UV-1800 (Япония) в кварцевых кюветах ($l = 10$ мм) в интервале длин волн 350–750 нм. Пределы допустимых значений абсолютной погрешности по шкале $\lambda \pm 0.3$ нм. Производные электронных спектров поглощения первого порядка получали с помощью программного обеспечения спектрофотометра UV-Probe 2.31; шаг дифференцирования ($\Delta\lambda$) варьировали от 1 до 80 нм; масштабирующий фактор – 100.

Выбор аналитических длин волн для анализа модельных смесей методом Фирордта проводили согласно [23], значения составили 470.2 и 536.7 нм.

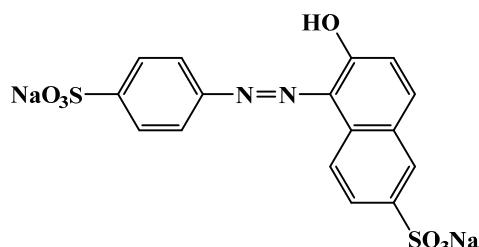
Значения «нулевых пересечений» спектров поглощения: для Е110 – 482.5 нм, Е124 – 507 нм ($\Delta\lambda = 2$ нм).



Статистическую обработку результатов параллельных определений ($n = 3$) проводили по общепринятым формулам с помощью программы MSEExcel при уровне доверительной вероятности $P = 0.95$.

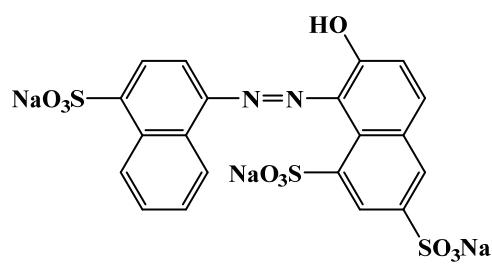
Результаты и их обсуждение

Исследуемые синтетические пищевые красители относятся к сульфопроизводным моноазосоединений, хорошо растворимы в воде и устойчивы в широком диапазоне pH [3]:



Желтый «солнечный закат» (E 110)

Yellow "sunset" (E110)



Понсо 4R (E124)

Ponso 4R (E124)

Электронные спектры поглощения водных растворов красителей имеют широкие полосы поглощения с характеристическими максимумами при 482.5 и 507 нм для E110 и E124 соответственно, в модельных смесях наблюдается сильное перекрывание полос поглощения в диапазоне 350–750 нм (рис. 3).

Поскольку и метод Фирордта, и производная спектрофотометрия могут быть использованы только при соблюдении основного закона светопоглощения для обоих компонентов и условия аддитивности для их смеси, предварительно была установлена линейная зависимость оптической плотности растворов от концентрации индивидуальных красителей в диапазоне 2–20 мг/л.

Метод Фирордта. Определение аналитических длин волн по методу Фирордта проводили по спектрам поглощения индивидуальных красителей с концентрацией 8 мг/л. Рассчитывали

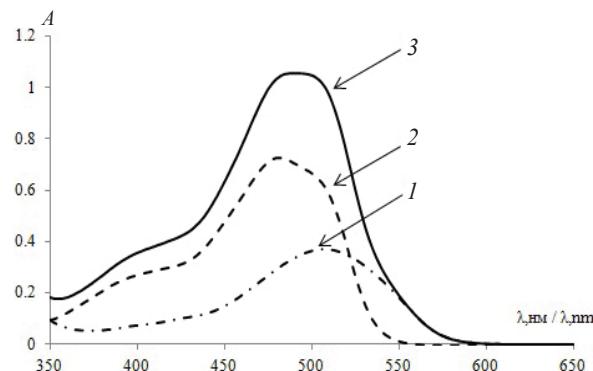


Рис. 3. Электронные спектры поглощения индивидуальных красителей: 1 – E110, 2 – E124, 3 – их смеси ($C_{110} = 14$ мг/л, $C_{124} = 8$ мг/л)

Fig. 3. Electronic absorption spectra of individual dyes E110 (1), E124 (2) and their mixtures (3) ($C_{110} = 14$ mg/l, $C_{124} = 8$ mg/l)

разности $A(E110) - A(E124)$ при каждой длине волны, строили график зависимости $\Delta A = f(\lambda)$, и максимальное и минимальное значение на полученной кривой были выбраны в качестве аналитических длин волн, которые составили 470.2 и 536.7 нм. Найденные таким способом λ_1 и λ_2 не совпадают с максимумами поглощения индивидуальных соединений.

Для каждой концентрации красителя (2.0; 8.0; 14.0; 20.0 мг/л) при выбранных длинах волн рассчитывали коэффициент поглощения по формуле

$$k = \frac{A}{lC}$$

Полученные значения коэффициентов поглощения ($\text{л}\cdot\text{мг}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$) составили для E110 $k_1^{470,2} = 0.049 \pm 0.001$; $k_2^{536,7} = 0.005 \pm 0.001$; для E124 $k_1^{470,2} = 0.030 \pm 0.001$; $k_2^{536,7} = 0.034 \pm 0.001$.

Проверку закона аддитивности проводили для приготовленных 16 модельных смесей с разным соотношением концентраций индивидуальных компонентов (2.0; 8.0; 14.0; 20.0 мг/л) по методике [23]. Результаты измеренных значений оптических плотностей отличались от рассчитанных по формуле

$$A_{\text{расч}}^{\lambda} = k_1^{\lambda} C_1 l + k_2^{\lambda} C_2 l$$

не более чем на 5% для смесей, в которых общее содержание красителей не превышало 28 мг/л. Для дальнейших расчетов смеси, отличающиеся оптической плотностью более 5%, не принимали во внимание.

Концентрацию каждого красителя в 12 модельных смесях определяли при выбранных длинах волн по формулам

$$C_{E110} = \frac{A^{\lambda_1} k_2^{\lambda_2} - A^{\lambda_2} k_2^{\lambda_1}}{(k_1^{\lambda_1} k_2^{\lambda_2} - k_1^{\lambda_2} k_2^{\lambda_1})l},$$

$$C_{E124} = \frac{A^{\lambda_2} k_1^{\lambda_1} - A^{\lambda_1} k_1^{\lambda_2}}{(k_1^{\lambda_1} k_2^{\lambda_2} - k_1^{\lambda_2} k_2^{\lambda_1})l}.$$

Полученные результаты представлены в табл. 2.

Как видно из представленных данных, во всех модельных растворах наблюдали несколько завышенные значения содержания Е110, правильность определения варьировала от 102 до 105%. Содержание красителя Е124, наоборот, в большинстве случаев заниженное, и правильность определения варьировала от 93 до 107%.

Таблица 2 / Table 2

Результаты определения содержания красителей Е110 и Е124 при совместном присутствии в модельных водных растворах по методу Фирордта ($n = 3$; $P = 0.95$)

The Results of the Simultaneous Determination of the Dyes E110 and E124 in Model Aqueous Solutions According to Vierordt's Method ($n = 3$; $P = 0.95$)

Введено, мг/л / Added, mg/l		Найдено, мг/л / Found, mg/l		Правильность, % / Correctness, %	
C_{E110}	C_{E124}	C_{E110}	C_{E124}	C_{E110}	C_{E124}
2.0	2.0	2.04±0.04	2.05±0.04	102±2	102±2
2.0	8.0	2.10±0.06	7.8±0.2	105±3	95.3±0.8
2.0	14.0	2.05±0.07	14.1±0.3	103±4	97±1
2.0	20.0	2.10±0.05	19.5±1.2	102±5	96±1
8.0	2.0	8.3±0.4	2.10±0.05	103±5	105±2
8.0	8.0	8.2±0.3	7.76±0.02	103±3	97.0±0.3
8.0	14.0	8.2±0.2	13.6±0.2	102±3	97.1±1.6
8.0	20.0	8.2±0.2	19.22±0.13	102±3	96.1±0.7
14.0	2.0	14.4±0.5	2.1±0.2	103±4	104±6
14.0	8.0	14.3±0.5	7.69±0.07	102±4	96±1
20.0	2.0	20.4±1.1	2.05±0.01	102±6	107±6
20.0	8.0	20.5±0.9	7.47±0.12	103±5	93±1

Производная спектрофотометрия первого порядка с аналитическими длинами волн при «нулевом пересечении». Для определения содержания индивидуальных компонентов с помощью рассматриваемого подхода необходимо в первую очередь установить значения длин

волн «нулевого пересечения» производных спектров поглощения первого порядка каждого соединения. Как видно из рис. 4, первые производные спектров поглощения Е110 и Е124 имеют единственную точку пересечения с осью абсцисс.

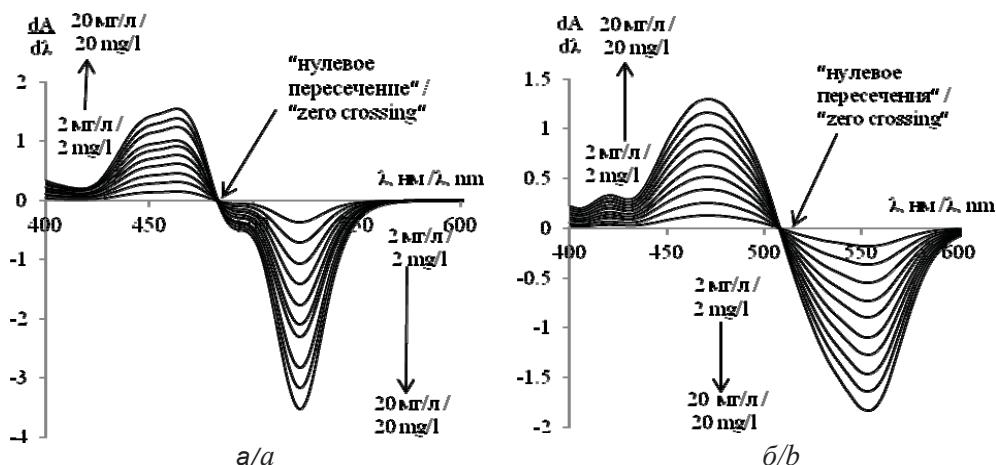


Рис. 4. Производные первого порядка электронных спектров поглощения красителей при различной концентрации: a – Е110; b – Е124

Fig. 4. First-order derivatives of electronic absorption spectra of dyes at various concentrations: a – Е110; b – Е124

Первые производные спектров поглощения индивидуальных красителей и их смеси, представленные на рис. 5, показывают, что при значении «нулевого пересечения» Е110 его вклад в

первую производную спектра поглощения смеси будет практически равен нулю. Следовательно, при этой длине волны значение $dA/d\lambda$ будет зависеть только от концентрации Е124.

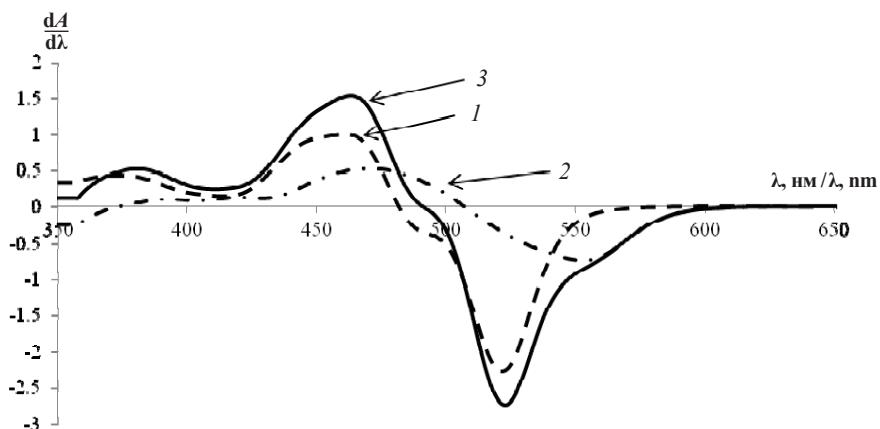


Рис. 5. Первые производные спектров поглощения: 1 – Е110 ($C = 14$ мг/л), 2 – Е124 ($C = 8$ мг/л), 3 – их смеси

Fig. 5 First-order derivatives of the absorption spectra: 1 – Е110 ($C = 14$ mg/l), 2 – Е124 ($C = 8$ mg/l), 3 – their mixtures

Для каждого красителя получены первые производные спектров поглощения для всех исследуемых концентраций с различным шагом дифференцирования $\Delta\lambda$ (от 1 до 80 нм) с использованием программного обеспечения спектрофотометра UV-Probe 2.31. Установлено, что

значение первой производной при длине волны максимума поглощения производной нулевого порядка отлично от математического нуля и зависит от шага дифференцирования $\Delta\lambda$ (рис. 6, a, б). Величина этого отклонения может влиять на погрешность определения.

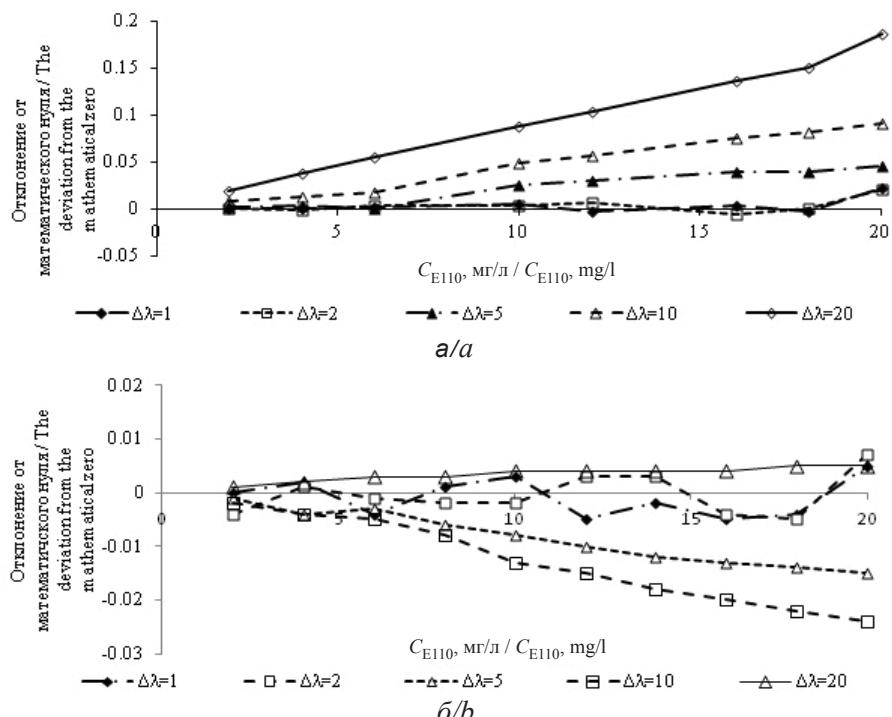


Рис. 6. Отклонение от математического нуля значения $\frac{dA}{d\lambda}$ в точках нулевого пересечения: а – Е110, б – Е124; $C = 2-20$ мг/л

Fig. 6. The deviation of value $\frac{dA}{d\lambda}$ at the points of zero intersection from the mathematical zero for Е₁₁₀ (a), Е₁₂₄ (b); $C = 2-20$ mg/l



Как видно из рис. 6, *a* значение первой производной Е110 при длине волны максимума поглощения (482.5 нм) зависит от шага дифференцирования. Наименьшие отклонения от «нуля» фиксировали при $\Delta\lambda = 1$ и 2 нм, значения отклонений увеличивались с ростом концентрации красителя в растворе: от 0.002 ($C = 2$ мг/л) до 0.021 ($C = 20$ мг/л). Также установлено, что увеличение шага дифференцирования приводит к большим отклонениям от математического нуля. Так, для концентрации 20 мг/л при $\Delta\lambda = 2$ нм отклонение составляет 0.021, а при $\Delta\lambda = 20$ нм – 0.186, т. е. возрастает на порядок. Очевидно, что это может вносить вклад в систематическую погрешность определения индивидуального компонента.

Несколько иная картина наблюдается при оценке значения первой производной спектров поглощения Е124, соответствующей максимуму поглощения 507.0 нм. Как видно на рис. 6, *b*, значения отклонений от математического нуля были как положительными, так и отрицательными. Максимальные отклонения практически на порядок ниже таковых для Е110.

Для оценки погрешности определения индивидуальных красителей в смесях был выбран шаг дифференцирования $\Delta\lambda = 2$ нм, для которого отклонения от нуля обоих компонентов минимальны во всем диапазоне исследуемых концентраций.

Проведено определение содержания красителей в 12 модельных смесях способом градуировочной зависимости. Для определения Понсо 4R строили градуировочную зависимость по значениям его первых производных при длине волны «нулевого пересечения» первой производной спектра поглощения Желтого «солнечный закат» (482.5 нм). Уравнение градуировочной зависимости имело вид $dA/d\lambda = 0.0719C + 0.0002$; $R^2 = 0.9999$. Для определения Желтого «солнечный закат» строили градуировочную зависимость по значениям его первых производных при длине волны «нулевого пересечения» первой производной спектра поглощения Понсо 4R (507.0 нм). Уравнение градуировочной зависимости имело вид $dA/d\lambda = 0.0629C - 0.0017$; $R^2 = 0.9999$. Полученные результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3 /Table 3

Результаты определения содержания красителей Е110 и Е124 в модельных водных растворах методом первой производной при «нулевом пересечении» ($n = 3$; $P = 0.95$)

The Results of the Determination of the Dyes E110 and E124 in Model Aqueous Solutions by the Method of the First Derivative with the “Zero Intersection” ($n = 3$; $P = 0.95$)

Введено, мг/л / Added, mg/l		Найдено, мг/л / Found, mg/l		Правильность, % / Correctness, %	
C_{E110}	C_{E124}	C_{E110}	C_{E124}	C_{E110}	C_{E124}
2.0	2.0	2.02±0.05	2.00±0.04	101.0±2.0	100.0±2.0
2.0	8.0	1.99±0.03	7.8±0.1	98±3	99.0±1.0
2.0	14.0	1.98±0.08	14.2±0.2	99±4	101.1±1.1
2.0	20.0	2.00±0.01	19.5±1.2	98.4±2.4	97.7±2.1
8.0	2.0	8.0±0.1	2.1±0.1	101.0±1.0	102.2±2.2
8.0	8.0	8.0±0.1	7.9±0.1	99.4±1.3	99.2±1.7
8.0	14.0	7.98±0.05	14.1±0.3	99.8±0.7	101.0±2.2
8.0	20.0	8.0±0.2	19.9±0.3	99.7±2.1	99.5±1.4
14.0	2.0	14.03±0.06	2.05±0.15	100.2±0.4	103±3
14.0	8.0	14.0±0.1	7.9±0.4	99.8±0.6	98.2±2.2
20.0	2.0	19.8±0.1	2.05±0.12	99.2±0.7	103±3
20.0	8.0	19.9±0.1	7.7±0.6	99.5±0.7	96±3

Как видно из табл. 3, правильность определения Е110 с использованием метода первой производной варьирует от 98 до 101%, Е124 – от 96 до 103%. Проанализированы погрешности двух методов определения содержания красителей в модельных смесях. На рис. 7 представлены значения относительной погрешности определения ($\delta, \%$) в зависимости от соотношения компонентов в смеси.

Как видно из представленных диаграмм, погрешность определения индивидуальных компонентов зависит от содержания компонентов в смеси. Погрешность определения Е110 по методу Фирордта составляет 1.8–5%, погрешность определения с помощью первой производной – 0.2–2%. Применение производной спектрофотометрии для определения Е124 также дает более

точные результаты, чем метод Фирордта. Однако значения погрешностей несколько выше, чем у Е110. Так, определение Е124 методом Фирордта

возможно с погрешностями 2–7%, с использованием первой производной при «нулевом пересечении» – 0.2–4%.

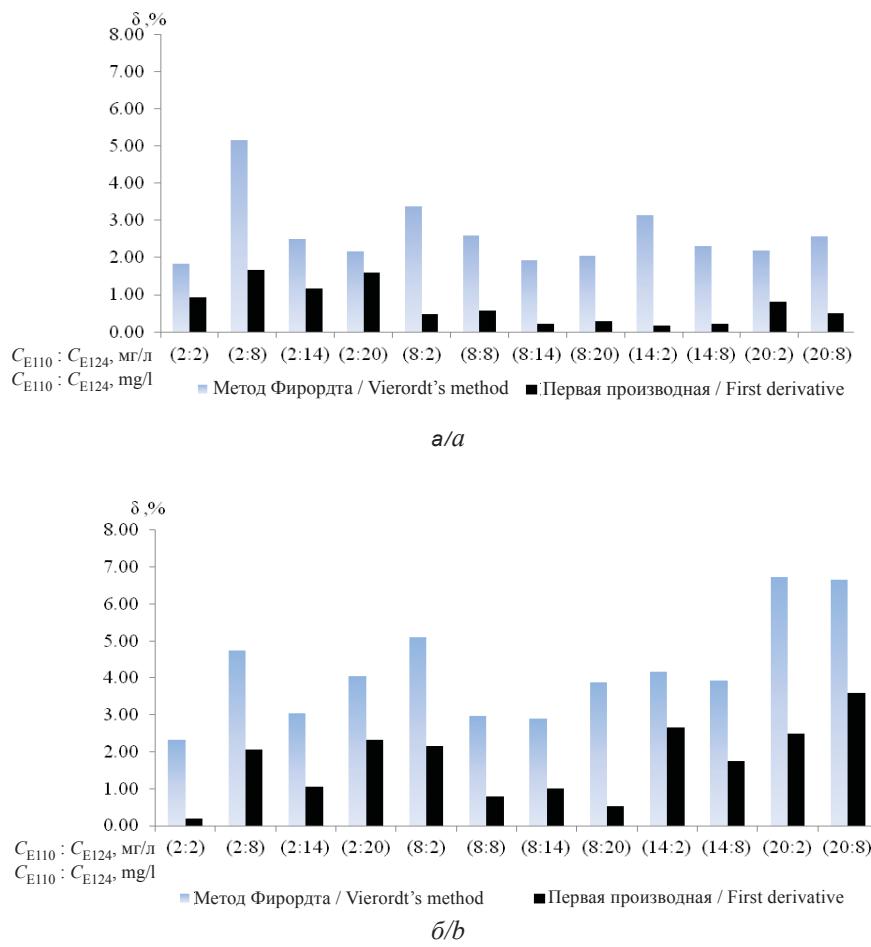


Рис. 7. Относительные погрешности определения Е110 (а) и Е124 (б) в модельных смесях, полученные методами Фирордта и первой производной
Fig. 7. Relative errors of determination of E110 (a) and E124 (b) in model mixtures by the Vierordt's and first derivative methods

Заключение

Метод Фирордта применен для определения Е110 и Е124 при совместном присутствии в модельных водных растворах. При выбранных аналитических длинах волн 470.2 и 536.7 нм погрешность определения для Е110 не превышала 5%, для Е124 – 7%.

Для определения Е110 и Е124 также применен метод первой производной при «нулевом пересечении». Исследовано влияние параметров получения первых производных и установлено, что значение «нулевого пересечения» зависит от шага дифференцирования $\Delta\lambda$ и концентрации компонентов. При увеличении $\Delta\lambda$ и концентрации наблюдается отклонение от «нуля» при аналитической длине волны, соответствующей

максимуму поглощения компонента. Минимальные, близкие к «нулю» значения наблюдаются при $\Delta\lambda$, не превышающей 2 нм.

Проведен сравнительный анализ двух методов по относительной погрешности определения индивидуальных компонентов в модельных смесях. Установлено, что погрешность определения методом производной спектрофотометрии меньше, чем методом Фирордта. Ошибки определения в обоих случаях зависят от концентрации и соотношения компонентов.

Список литературы

- Гигиенические требования по применению пищевых добавок. Санитарно-эпидемиологические правила и нормы. СанПиН 2.3.2.1293-03 / Минздрав России. М., 2003.



2. Козина О. В. Влияние пищевых добавок на организм человека // Практико-ориентированные молодежные исследования проблем региона : материалы региональной науч.-практ. конф. обучающихся и студентов. Тюмень : Изд-во Тюмен. гос. нефтегаз. ун-та, 2012. С. 80–84.
3. Смирнов Е. В. Пищевые красители. Справочник. СПб. : Профессия, 2009. 352 с.
4. Шестопалова Н. Б. Системы нПАВ – H_2O – электролиты в мицеллярной экстракции и фотометрическом определении синтетических пищевых красителей : автореф. дис. ... канд. хим. наук. Саратов, 2015. 23 с.
5. Берштейн И. Я., Каминский Ю. Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии. Л. : Химия, 1975. 232 с.
6. Власова И. В., Вершинин В. И., Шелпакова А. С. Хемометрические алгоритмы в спектрофотометрическом анализе неразделенных смесей органических веществ // Вестн. Омск. ун-та. 2010. № 2. С. 14–24.
7. Altmöz S., Toptan S. Determination of Tartrazine and Ponceau-4R in various food samples by Vierordt's method and ratio spectra first-order derivative UV spectrophotometry // J. Food Compost Anal. 2002. Vol. 15. P. 667–683. DOI: 10.1155/2014/650465
8. Altmöz S., Toptan S. Simultaneous determination of Indigo and Ponceau-4R in food samples by using Vierordt's method, ratio spectra first order derivative and derivative UV spectrophotometry // J. Food Compost Anal. 2003. Vol. 16. P. 517–530. DOI: 10.1016/S0889-1575(03)00022-X
9. Bozdogan A., Özgür M.U., Koyuncu I. Simultaneous determination of sunset yellow and ponceau 4R in gelatin powder by derivative spectrophotometry and partial least-squares multivariate spectrophotometric calibration // Anal. Lett. 2000. Vol. 33, № 14. P. 2975–2982. DOI: 10.1080/00032710008543235
10. López-de-Alba P. L., López-Martínez L., Michelini-Rodríguez L. I., Wróbel K., Amador-Hernández J. Extraction of sunset yellow and tartrazine by ion-pair formation with Adogen-464 and their simultaneous determination by bivariate calibration and derivative spectrophotometry // Analyst. 1997. Vol. 122. P. 1575–1579. DOI: 10.1039/a702268i
11. Gianotti V., Angioi S., Gosetti F., Marengo E., Gennaro M. C. Chemometrically assisted development of IP-RP-HPLC and spectrophotometric methods for the identification and determination of synthetic dyes in commercial soft drinks // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2005. Vol. 28. P. 923–937. DOI: 10.1081/JLC-200051484.
12. Булатов М. И., Калинкин И. П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа. Л. : Химия, 1986. 432 с.
13. Власова И. В., Вершинин В. И., Цюпко Т. Г. Методология спектрофотометрического анализа смесей органических соединений, проблема неаддитивности светопоглощения // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66, № 1. С. 25–33.
14. Шестопалова Н. Б., Петрович М. В., Чернова Р. К. Определение синтетических пищевых красителей Е102 и Е110 при совместном присутствии // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия, Биология, Экология. 2016. Т. 16, вып. 3 С. 247–253. DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-3-247-253
15. Sayar S., Özdemir Y. First-derivative spectrophotometric determination of Ponceau 4R, Sunset Yellow and Tartrazine in confectionery products // Food Chem. 1998. Vol. 61, № 3. P. 367–372.
16. Üstün Özgür M., Alpdoğan G., Koyuncu İ. Zero-crossing derivative spectrophotometric determination of mixtures of sunset yellow and erythrosine in pure form and in tablets // Anal. Lett. 2007. Vol 35, № 4. P. 721–732. DOI: 10.1081/AL-120003172
17. Berzas Nevado J. J., Rodriguez Flore J., Villaseror Lerena M. J. Simultaneous determination of tartrazine and sunset yellow by derivative spectrophotometry and ratio spectra derivative // Talanta. 1993. Vol. 40, № 9. P. 1391–1396.
18. Özgür M. Ü. A rapid spectrophotometric method to resolve a binary mixture of food colorants (Riboflavin and Sunset Yellow) // Turk. J. Chem. 2004. Vol. 28. P. 325–333.
19. Capitán-Vallvey L. F., Valencia M. C., Nicolás E. A. Flow injection analysis with on-line solid phase extraction for spectrophotometric determination of Ponceau 4R and its subsidiary unsulfonated dye in sweets and cosmetic products // Microchim. Acta. 2002. Vol. 138, № 1–2. P. 69–76.
20. Joseph-Charles J., Langlois M. H., Montagut M., Boyer C., Dubost J. P. Simultaneous Determination of Two Synthetic Dyes Erytrosine and Sunset Yellow in a Pharmaceutical Syrup By First Derivative Visible Spectrophotometry // Anal. Lett. 2002. Vol. 35, № 4. P. 721–732. DOI: 10.1081/AL-120003172
21. Vidotti E. C., Cancino J. C., Oliveira C. C., Rollemburg M. do C. E. Simultaneous determination of food dyes by first derivative spectrophotometry with sorption onto polyurethane foam // Anal. Sci. 2005. Vol. 21. P. 149–153. DOI: 10.2116/analsci.21.149
22. Özdemir Y., Akkan A. A. Determination of Patent Blue V and Carmoisine in gelatine desserts by derivative spectrophotometry // Turk. J. Chem. 1999. Vol. 23. P. 221–229.
23. Основы аналитической химии : практическое руководство / под ред. Ю. А. Золотова. М. :Лаборатория знаний. 2017. 462 с.

Образец для цитирования:

Силаев Д. В., Шестопалова Н. Б., Фомина Ю. А., Русанова Т. Ю. Определение синтетических пищевых красителей Е110 и Е124 при совместном присутствии методами Фирордта и производной спектрофотометрии // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 257–267. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-257-267>



Determination of Synthetic Food Dyes E110 and E124 in the Joint Presence by Vierordt's Method and Derivative Spectrophotometry

D. V. Silaev, N. B. Shestopalova,
Yu. A. Fomina, T. Yu. Rusanova

Dmitry V. Silaev, <https://orcid.org/0000-0001-8392-138X>, Saratov State Medical University named by V. I. Razumovsky, 112 Bolshaya Kazachya St., Saratov 410012, Russia; Saratov State University, 83 Astrakhansky St., Saratov 410012, Russia, sil_diman@mail.ru

Natalia B. Shestopalova, <https://orcid.org/0000-0002-4254-9478>, Saratov State Medical University named by V. I. Razumovsky, 112 Bolshaya Kazachya St., Saratov 410012, Russia, shestopalovanb@yandex.ru

Yulia A. Fomina, <https://orcid.org/0000-0001-7853-0333>, Saratov State Medical University named by V. I. Razumovsky, 112 Bolshaya Kazachya St., Saratov 410012, Russia, fominaya@mail.ru

Tatiana Yu. Rusanova, <https://orcid.org/0000-0001-5902-3707>, Saratov State University, 83 Astrakhansky St., Saratov 410012, Russia, tatyanyarus@yandex.ru

The application of the Vierordt's and the first derivative at the "zero crossing" methods was evaluated for the simultaneous determination of synthetic food dyes Yellow "sunset" (E110) and Ponso 4R (E124) in model solutions. The concentrations interval of components is established at which the principle of optical densities additivity is observed. For the implementation of the Vierordt's method, wavelengths with the maximum difference in the absorption coefficients of the individual components (470.2 and 536.7 nm) were chosen. The influence of the differentiation step at various concentrations of dyes on the magnitude of the first derivative corresponding to the absorption maximum in the spectrum of zero order was studied. The values of the "zero intersections" for the first derivatives of the absorption spectra of individual compounds were determined at the optimal differentiation step $\Delta\lambda = 2$ nm, which amounted to 482.5 nm and 507 nm for E110 and E124, respectively. It was established that the error in the determination of individual dyes by the method of derivative spectrophotometry is lower than by the Vierordt's method. The correctness of the dyes determination by the Vierordt's method varied for E110 from 102 to 105%, for E124 from 93 to 107%. The correctness of the determination by the first derivative method with "zero crossing" varied for E110 from 98% to 101%, for E124 from 96% to 103%.

Keywords: synthetic food dyes, Yellow "sunset", Ponso 4R, Vierordt's method, derivative spectrophotometry.

References

1. *Gigienicheskie trebovaniya po primeneniyu pishchevyh dobavok. Sanitarno-epidemiologicheskie pravila i normy. SanPiN 2.3.2.1293-03. Minzdrav Rossii* [Hygienic requirements for the use of food additives. Sanitary and epidemiological rules and regulations. SanPiN 2.3.2.1293-03. Ministry of Health]. Moscow, 2003 (in Russian).
2. Kozina O. V. Vliyanie pishchevyh dobavok na organizm cheloveka [Influence of food additives on the human body]. In: *Praktiko-orientirovannye molodezhnye issledovaniya problem regional'noy nauch.-prakt. konf. obuchayushchihsya i studentov* [Practice-oriented youth studies of the region. Materials of the regional scientific-practical conference of students]. Tyumen, Izd-vo Tyumen. gos. neftegaz. un-ta, 2012, pp. 80–84 (in Russian).
3. Smirnov E. V. *Pishchevyye krasiteli* [Food coloring]. St. Petersburg, Professiya Publ., 2009. 352 p. (in Russian).
4. Shestopalova N. B. *Sistemy nPAV – H₂O – elektrolity v micellyarnoj ekstrakcii i fotometricheskom opredelenii sinteticheskikh pishchevyh krasiteley* [Systems nPAV – H₂O – electrolytes in micellar extraction and photometric determination of synthetic food dyes]. Thesis Diss. Cand. Sci. (Chem.). Saratov, 2015. 23 p. (in Russian).
5. Berstein I. Ya., Kaminsky Yu. L. *Spektrofotometricheskiy analiz v organicheskoy himii* [Spectrophotometric analysis in organic chemistry]. Leningrad, Himiya Publ., 1975. 232 p. (in Russian).
6. Vlasova I. V., Vershinin V. I., Shelpakova A. S. Chemometric algorithms in spectrophotometric analysis of unseparated mixtures of organic substances. *Vestn. Omsk. un-ta*, 2010, no. 2, pp. 14–24 (in Russian).
7. Altmöz S., Toptan S. Determination of Tartrazine and Ponceau-4R in various food samples by Vierordt's method and ratio spectra first-order derivative UV spectrophotometry. *J. Food Compost Anal.*, 2002, vol. 15, pp. 667–683. DOI: 10.1155/2014/650465
8. Altmöz S., Toptan S. Simultaneous determination of Indigo and Ponceau-4R in food samples by using Vierordt's method, ratio spectra first order derivative and derivative UV spectrophotometry. *J. Food Compost Anal.*, 2003, vol. 16, pp. 517–530. DOI: 10.1016/S0889-1575(03)00022-X
9. Bozdogan A., Özgür M. U., Koyuncu I. Simultaneous determination of sunset yellow and ponceau 4R in gelatin powder by derivative spectrophotometry and partial least-squares multivariate spectrophotometric calibration. *Anal. Lett.*, 2000, vol. 33, no. 14, pp. 2975–982. DOI: 10.1080/00032710008543235
10. López-de-Alba P. L., López-Martínez L., Michelini-Rodríguez L. I., Wróbel K., Amador-Hernández J. Extraction of sunset yellow and tartrazine by ion-pair formation with Adogen-464 and their simultaneous determination by bivariate calibration and derivative spectrophotometry. *Analyst*, 1997, vol. 122, pp. 1575–1579. DOI: 10.1039/a702268i
11. Gianotti V., Angioi S., Gosetti F., Marengo E., Gennaro M. C. Chemometrically assisted development of IP-RP-HPLC and spectrophotometric methods for the identification and determination of synthetic dyes in commercial soft drinks. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.*, 2005, vol. 28, pp. 923–937. DOI: 10.1081/JLC-200051484
12. Bulatov M. I., Kalinkin I. P. *Prakticheskoe rukovodstvo po fotometricheskim metodam analiza* [Practical guide to photometric methods of analysis]. Leningrad, Chemistry Publ., 1986. 432 p. (in Russian).



13. Vlasova I. V., Vershinin V. I., Tsypko T. G. Methodology of spectrophotometric analysis of mixtures of organic compounds, the problem of nonadditivity of light absorption. *Zhurn. analit. himii* [J. Analyte. Chemistry], 2011, vol. 66, no. 1, pp. 25–33 (in Russian).
14. Shestopalova N. B., Petrovich M. V., Chernova R. K. Determination of synthetic food dyes E102 and E110 in the joint presence. *Izv. Sarat. un-ta. (N. S.), Ser. Chemistry, Biology, Ecology*, 2016, vol. 16, iss. 3, pp. 247–253 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-3-247-253
15. Sayar S., Özdemir Y. First-derivative spectrophotometric determination of Ponceau 4R, Sunset Yellow and Tartrazine in confectionery products. *Food Chem.*, 1998, vol. 61, no. 3, pp. 367–372.
16. Üstün Özgür M., Alpdoğan G., Koyuncu İ. Zero-crossing derivative spectrophotometric determination of mixtures of sunset yellow and erythrosine in pure form and in tablets. *Anal. Lett.*, 2007, vol. 35, no. 4, pp. 721–732. DOI: 10.1081/AL-120003172
17. Berzas Nevado J. J., Rodriguez Flore J., Villaseror Lerena M. J. Simultaneous determination of tartrazine and sunset yellow by derivative spectrophotometry and ratio spectra derivative. *Talanta*, 1993, vol. 40, no. 9, pp. 1391–1396.
18. Özgür M. Ü. A rapid spectrophotometric method to resolve a binary mixture of food colorants (Riboflavin and Sunset Yellow). *Turk. J. Chem.*, 2004, vol. 28, pp. 325–333.
19. Capitán-Vallvey L. F., Valencia M. C., Nicolás E. A. Flow injection analysis with on-line solid phase extraction for spectrophotometric determination of Ponceau 4R and its subsidiary unsulfonated dye in sweets and cosmetic products. *Microchim. Acta*, 2002, vol. 138, no. 1–2, pp. 69–76.
20. Joseph-Charles J., Langlois M. H., Montagut M., Boyer C., Dubost J. P. Simultaneous Determination of Two Synthetic Dyes Erytrosine and Sunset Yellow in a Pharmaceutical Syrup by First Derivative Visible Spectrophotometry. *Anal. Lett.*, 2002, vol. 35, no. 4, pp. 721–732. DOI: 10.1081/AL-120003172
21. Vidotti E. C., Cancino J. C., Oliveira C. C., Rollemburg M. do C. E. Simultaneous determination of food dyes by first derivative spectrophotometry with sorption onto polyurethane foam. *Anal. Sci.*, 2005, vol. 21, pp. 149–153. DOI: 10.2116/analsci.21.149
22. Özdemir Y., Akkan A. A. Determination of Patent Blue V and Carmoisine in gelatine desserts by derivative spectrophotometry. *Turk. J. Chem.*, 1999, vol. 23, pp. 221–229.
23. *Osnovy analiticheskoy himii: prakticheskoe rukovodstvo* [Fundamentals of analytical chemistry: a practical guide]. Ed. by Yu. A. Zolotov. Moscow, Laboratoriya znanii Publ., 2017. 462 p. (in Russian).

Cite this article as:

Silaev D. V., Shestopalova N. B., Fomina Yu. A., Rusanova T. Yu. Determination of Synthetic Food Dyes E110 and E124 in the Joint Presence by Vierordt's Method and Derivative Spectrophotometry. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 257–267 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-257-267>



УДК 543. 25

О взаимодействии фосфорномолибденовой кислоты с α -аминокислотами и возможности применения продуктов реакции в ионометрии

Р. К. Чернова, О. В. Варыгина, А. М. Захаревич



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

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

Захаревич Андрей Михайлович, кандидат физико-математических наук, заведующий лабораторией диагностики наноматериалов и структур «ОНИ наноструктур и биосистем», Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, lab-15@mail.ru

Рассмотрены условия синтеза ионных ассоциатов фосфорномолибдат-ионов с протонированной формой гидрохлорида лизина. Показано, что фосфорномолибденовая кислота (ФМК) подвергается процессам гидролиза с образованием следующих продуктов: $\text{HPO}_{42}^- + \text{Mo}_{12}\text{O}_{42}^- + 11\text{H}_2\text{O}$. При pH 2 в водных растворах ФМК устойчива, существует в виде аниона $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{42}]^{3-}$ и взаимодействует с протонированной формой лизина с образованием ассоциата $3[\text{H}]\text{Lys}^+[\text{FMK}]^{3-}$. Молярное соотношение лизин : ФМК = 3 : 1 доказано методом потенциометрического титрования, указанные молярные соотношения подтверждены данными элементного анализа. ИК-спектроскопическое исследование полученного ассоциата показало наличие фрагмента $-\text{Mo}-\text{O}$ ($\nu = 1900-500 \text{ см}^{-1}$) и группы $-\text{NH}_3^-$ ($\nu = 3500-3650 \text{ см}^{-1}$), что свидетельствует об ионном характере связи между анионом ФМК и катионом лизина. Пластифицированную мембрану получали путем добавления к навеске 0,050 г высущенного ассоциата 8 мл циклогексанона и 0,4316 г дигидрофталата. Нагревали до 60° С и добавляли при перемешивании небольшими порциями 0,2522 г поливинилхлорида. После растворения поливинилхлорида готовую прозрачную субстанцию помещали в чашку Петри ($d = 61 \text{ мм}$) и высушивали на воздухе в течение трех суток. Затем к тщательно отшлифованному торцу графитового стержня прикрепляли полученную ион-селективную мембрану, диаметр которой соответствовал диаметру трубки (6–8 мм). После высушивания перед работой электрод кондиционировали в течение 24 часов в 10^{-3} M растворе лизина. Электродная функция линейна в интервале концентраций 10^{-2} – 10^{-5} M . Впервые исследована морфология фосфорномолибденовой кислоты и ее ассоциата с лизином.

Ключевые слова: ион-селективные электроды, α -аминокислоты, ионный ассоциат, фосфорномолибденовая кислота.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-268-273>

Определение отдельных α -аминокислот (в частности, лизина) в их смешанных растворах и сложных объектах в настоящее время в основном проводят хроматографическими, спектроскопическими и электрофоретическими методами, которые непригодны для скрининговых испытаний продукции вследствие их дороговизны и трудоемкости. Этих недостатков лишена ионометрия, основанная на применении соответствующих сенсоров. Обзор таких сенсоров на α -аминокислоты представлен в работе [1]. Из обзора следует, что далеко не для всех α -аминокислот получены сенсоры, и в частности, не описаны сенсоры на основе ионных ассоциатов (преимущественно труднорастворимых), наиболее простой и распространенной формы ионофоров, часто применяемой в ионометрии многих органических соединений [2–5]. Для этого имеются объективные основания: фактически не известны труднорастворимые соединения для сильногидратированных α -аминокислот. Кроме того, ситуация с α -аминокислотами осложняется тем, что они, в зависимости от pH и других факторов, могут существовать в растворе в формах катионов, анионов, цвиттерионов (рис. 1). Типичная для основных α -аминокислот диаграмма распределения ионизированных форм в зависимости от pH на примере лизина представлена на рис. 1.

Как видно из рис. 1, в катионной протонированной форме лизин существует при pH 2 и в более кислых средах.

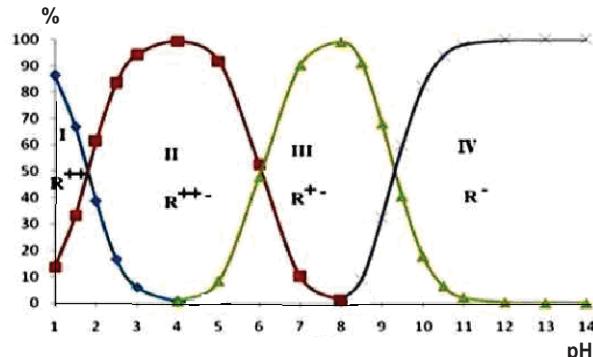
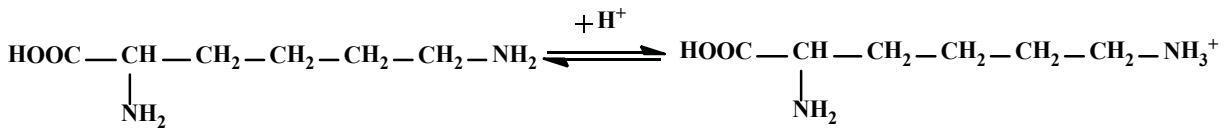


Рис. 1. Типичная для основных α -аминокислот диаграмма распределения ионизированных форм на примере лизина в зависимости от pH

Fig. 1. Typical for basic α -amino acids distribution diagram of ionized forms on the example of lysine depending on pH



Нами для исследования была выбрана малоизученная в ионометрии как лиганд-противоион фосфорномолибденовая кислота (ФМК), содержащая сложный гидрофобный анион – фосфоромолибдат. ФМК относится к гетерополисоединениям общей формулы $[X_xM_mO_y]$, причем $x < m$. М-атом металла в самой высокой степени окисления в нашем случае – молибден; гетероатомом X является атом фосфора. Согласно рентгенометрическим данным, постоянная решетки ФМК составляет $23,1\text{ \AA}^0$, в элементарной ячейке содержится 8 молекул. ФМК растворима в воде и кристаллизуется в виде хорошо образованных золотисто-желтых октаэдров с разным количеством кристаллизационной воды. Так, описаны гидраты, содержащие 2, 14, 16, 22, 27, 28, 29, 30 и до 50 молекул кристаллизационной воды. Большая часть этой воды – цеолитная по своей природе, и состав гидрата может значительно изменяться.

Особенно следует подчеркнуть, что согласно [2], ФМК подвергается в водных растворах гидролизу, например аналогично схожему по свойствам поливольфрамату:



Отмечается, что значения pH, при которых такие реакции происходят быстро и достаточно полно, имеют большой диапазон (pH 1–14) в зависимости от вступающего в реакцию полианиона. Многие полианионы являются сильными окислителями и подвергаются многократному

обратимому одно- и двухэлектронному восстановлению, образуя интенсивно окрашенные смешанно-валентные соединения (гетерополисини). Гетерополионы имеют сложную и до настоящего времени однозначно не установленную структуру, хотя для изучения структуры этих соединений в растворах применялись такие разнообразные методы, как физико-химический анализ равновесий, полярография и вольтамперометрия, солевая криоскопия, диффузия и дифракция, ультрацентрифугирование, рентгеноструктурный анализ, электронная и колебательная спектроскопия, ядерный магнитный резонанс, электронный парамагнитный резонанс [2].

В основе образования структур гетерополианионов лежат принципы электростатики и соотношения радиусов, которые известны для протяженных ионных решеток. Поэтому часто описывают эти структуры в виде совокупности MO_n -полиэдров с металлом в центре, которые соединяются вершинами, ребрами и реже – гранями. Однако атом металла не лежит в центре своего полиэдра из атомов кислорода, а сильно смещен к внешней части структуры полианиона, т. е. к вершине или ребру своего собственного полиэдра. Известно несколько типов таких структур. Одна из них, наиболее распространенная, в качестве примера приведена на рис. 2.

Было проведено термогравиметрическое исследование препарата ФМК, маркированного как $\text{H}_7[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6] \times \text{H}_2\text{O}$. Термогравиметрическое исследование, проведенное нами, под-

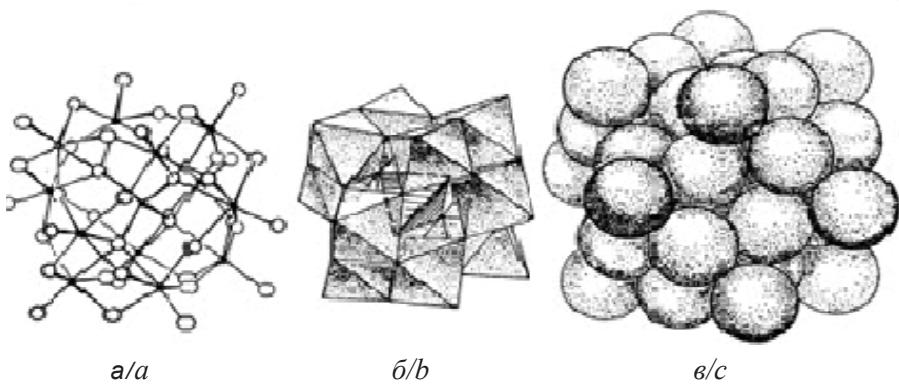


Рис. 2. Структура анионов (по Кеггину): *a* – $[\text{XMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$; *b* – изображенная в виде связей M-O; *c* – полиэдрическая модель и модель плотной упаковки

Fig. 2. The structure of the anions (Keggin): *a* – $[\text{XMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$; *b* – is depicted in the form of bonds M-O; *c* – polyhedral model and the model of close packing

твердило наличие воды, по разному связанной в соединении (рис. 3). Так, при 110–120° С удаляется вода слабо связанная, при 160–170° С удаляется координационно связанная вода и образуется безводный продукт, сохраняющий все свойства ФМК. При 450° С остаются устойчивые оксиды P_2O_5 и MoO_3 . Из анализа термограммы также следует, что препарат не содержит зольного остатка. Содержание воды в препарате составило 50%.

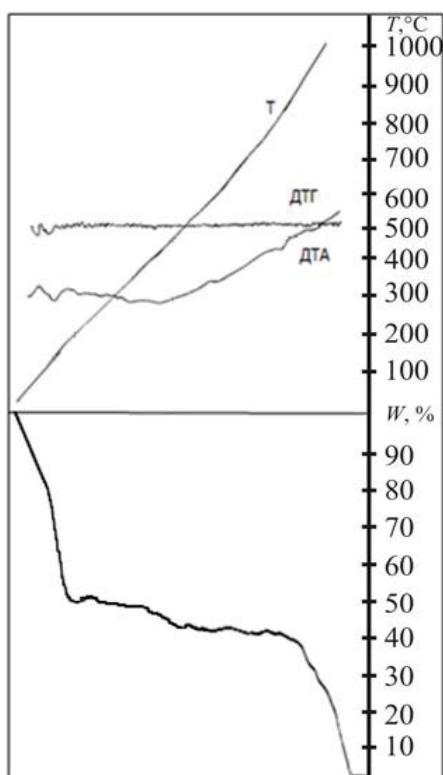


Рис. 3. Термогравиметрическое исследование фосфорномолибденовой кислоты
Fig. 3. Thermogravimetric study of the molyb-diphosphoric acid

Согласно [3], брутто-формулу ФМК обозначали как $H_7[P(Mo_2O_7)_6] \times H_2O$. Ряд авторов изображал брутто-формулу ФМК как $H_3H_4[P(Mo_2O_7)_6] \times H_2O$, подчеркивая, что семь атомов водорода в брутто-формуле неравноценны и первые 3 атома водорода легко диссоциируют в водном растворе, в результате чего pH водного раствора ФМК имеет кислую реакцию ($pH = 2,24$), причем отщепляются все 3 протона одновременно с образованием трехзарядного аниона. Следующие 4 атома водорода не влияют на кислотность и по своей природе сходны с атомами водорода группы OH органических кислот

[3]. Как уже указывалось, значение pH водного раствора ФМК составляет 2,24, а это значит, что в такой среде основные α -аминокислоты протонированы по атому азота и являются катионами. Нами исследовалась возможность образования твердой фазы в ряду всех 20 α -аминокислот при разных значениях pH. Было установлено, что из всех исследованных аминокислот только 4 (Arg, His, Lys, Try) образуют труднорастворимые соединения с ФМК, разные при разных pH. Было установлено, что в щелочной среде (pH 7) образуются студнеобразные осадки, не являющиеся ионофорами, и лишь при pH 2 образуется обильный мелкокристаллический желтый осадок, проявляющий свойства ионофора. Методом потенциометрического титрования лизина раствором ФМК (рис. 4) было показано, что молекулярные соотношения компонентов в ассоциате составляют $[Lys]H^+ : \text{ФМК}^{3-} = 3 : 1$, поэтому образующийся труднорастворимый ассоциат можно представить общей формулой: $3[H Lys]^+[\text{ФМК}]^{3-}$.

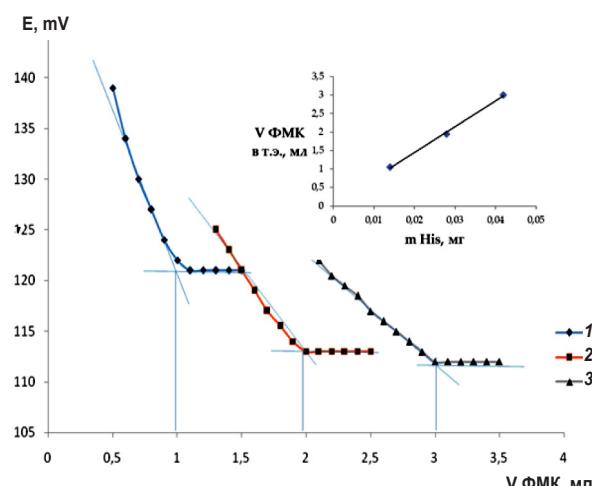


Рис. 4. Потенциометрическое титрование лизина С = 0,09 М фосфорномолибденовой кислотой С = 0,03 М: 1 – объем лизина для титрования 1 мл; 2 – объем лизина для титрования 2 мл; 3 – объем лизина для титрования 3 мл
Fig. 4. Potentiometric titration of lysine with 0.09 M phosphomolybdenic acid with 0.03 M, 1 – volume of lysine for titration of 1 ml; 2 – volume of lysine for titration of 2 ml; 3 – volume of lysine for titration of 3 ml

Нами проведены ИК-спектроскопические исследования полученного ассоциата (рис. 5).

Как следует из рис. 5, ИК-спектр ассоциата содержит характерные фрагменты как ФМК (связь -Mo-O с характеристической частотой $\nu = 1090-500 \text{ cm}^{-1}$), так и лизина (характерная для группы $-NH_3^+$ частота $\nu = 3300-3650 \text{ cm}^{-1}$).

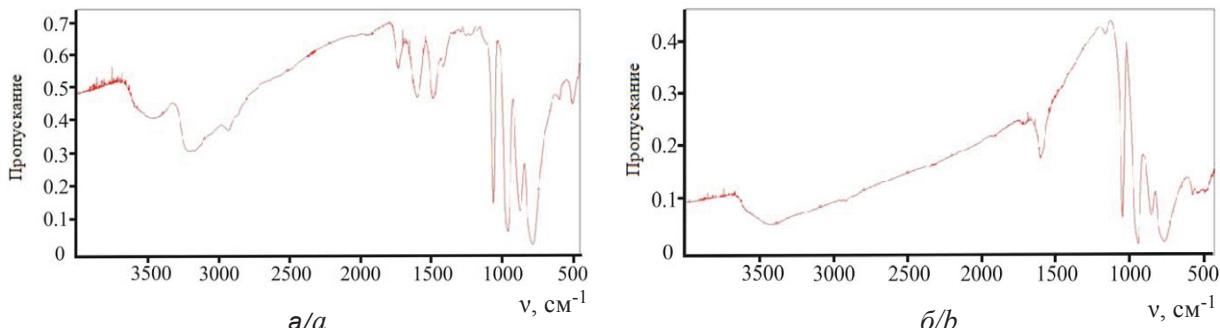


Рис. 5. ИК-спектры: *а* – ассоциата фосфорномолибденовая кислота – лизин, *б* – фосфорномолибденовой кислоты
Fig. 5. IR-spectrums: *a* – associate of phosphorus-molybdenum acid – lysine, *b* – phosphoric-molybdenum acid

Данные свидетельствуют о том, что связь в ассоциате носит ионный характер. Как уже указывалось, твердая фаза была получена со всеми основными аминокислотами при разных значениях pH, однако как ионофор может работать только ассоциат, полученный при pH 2, так как при более высоких значениях pH начинают преобладать соединения другого состава с продуктами гидролиза ФМК (осадок имеет белесый оттенок), который свойствами ионофора не обладает. Пленочные селективные мембранны с поливинилхлоридной матрицей на основе ассоциата лизина с ФМК изготавливали по известной методике: к навеске 0,0050 г высущенного ассоциата добавляли 8 мл циклогексанона и 0,4316 г дибутилфталата, нагревали до 60° С и при перемешивании небольшими

порциями добавляли 0,2522 г поливинилхлорида (ПВХ). После полного растворения ПВХ готовую прозрачную субстанцию помещали в чашку Петри ($d = 61$ мм) и оставляли высыхать на воздухе. Твердоконтактный сенсор получали методом «наклеенной пленки». Для этого к тщательно отшлифованному торцу графитового стержня приклеивали ионоселективный мембранный диск, полученный по вышеизложенной методике, диаметр которого соответствовал диаметру трубы (6–8 мм). После высыхания электроды перед работой кондиционировали в течение 24 ч в 1×10^{-3} М раствора лизина (таблица). Электродная функция ион-селективного электрода на лизин линейна в интервале концентраций 10^{-5} – 10^{-1} М (рис. 6).

Основные электрохимические характеристики ион-селективного электрода на лизин The Main Electrochemical Characteristics of the Ion-Selective Electrode for Lysine

<i>T</i> установ. стационарного потенциала, мин / <i>T</i> setting. the steady state Narn potential La, min	Рабочий диапазон С, М / Operating range C, M	S, мВ/пС S, мВ/пС	Время отклика мин / Response time, min	Стабильность, pH, °C / Stability, pH, °C	Дрейф потенциала, мВ/сут / Potential drift La, mV/day	Угловой коэф. наклона прямой / Corner coef. the slope of the straight	Срок службы, месяцы / Service life, months
3,0	1×10^{-5} – 1×10^{-1}	$19,1 \pm 0,2$	3,0	5–8, 15°–30°	2 ± 1	≈ 20	3,5

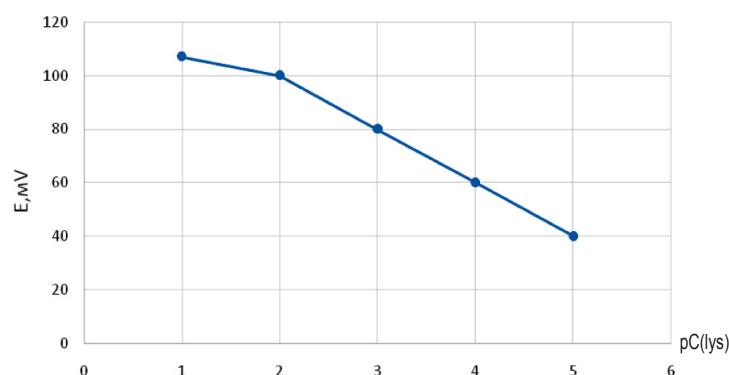


Рис. 6. Электродная функция ион-селективного электрода на лизин
Fig. 6. Electrode function of ion-selective electrode on lysine



Методом сканирующей электронной микроскопии проведен анализ ассоциата $[\text{Lys}]\text{H}^+ : \text{ФМК}^{3-} = 3 : 1$. Получены микрофотографии поверхности с помощью автоэмиссионного сканирующего электронного микроскопа MIRA 2 LMU производства фирмы Tescan, оснащенного системой энергодисперсионного микронализа INCA

Energy 350 (Чехия). Разрешающая способность микроскопа – 1 нм, чувствительность детектора INCA Energy – 133 эВ/10 мм². Определено процентное содержание молибдена, фосфора и кислорода. Расхождение практического содержания с теоретическим значением Mo не превышает 3%, P – 4%, O – 1% (рис. 7).

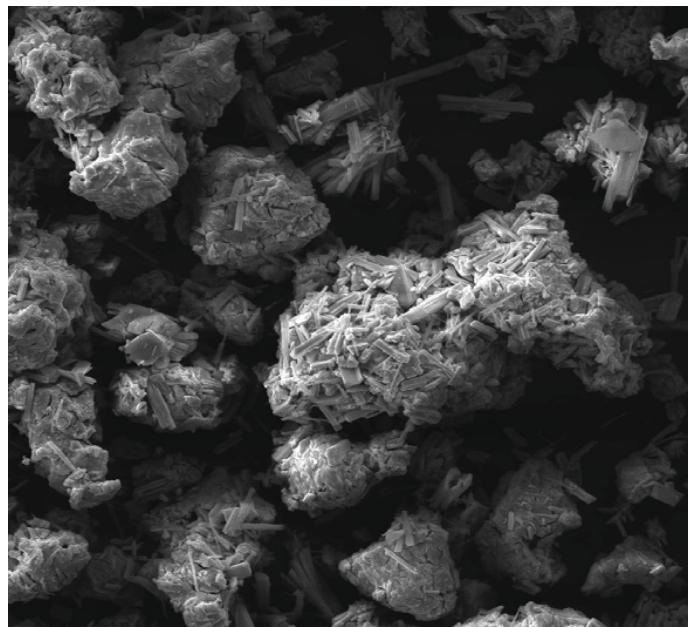


Рис. 7. Микроструктура ассоциата $[\text{Lys}]\text{H}^+ : \text{ФМК}^{3-} = 3 : 1$ (сканирующая электронная микроскопия, увеличение 200 μm)

Fig. 7. Microstructure of associate $[\text{Lys}]\text{H}^+ : \text{PhMA}^{3-} = 3 : 1$ (scanning electron microscopy, 200 μm magnification)

Список литературы

1. Варыгина О. В., Селифонова Е. И., Чернова Р. К. Сенсорные системы для определения α -аминокислот (обзор) // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 3. С. 261–268. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-261-267
2. Бобрешова О. В. Новые потенциометрические сенсоры для определения аминокислот, витаминов и лекарственных веществ в водных растворах // Аналитическая химия – новые методы и возможности : материалы съезда аналитиков России (Москва, 26–30 апреля 2010 г.). М. : Изд-во ГЕОХИ РАН, 2010. С. 45–46.
3. Агупова М. В., Паршина А. В., Бобрешова О. В. Потенциометрическое определение лизина моногидрохлорида в индивидуальных и смешанных водных растворах // Аналитическая химия – новые методы и возможности : материалы съезда аналитиков России (Москва, 26–30 апреля 2010 г.). М. : Изд-во ГЕОХИ РАН, 2010. С. 22.
4. Пат. 87260 Рос. Федерация. Потенциометрический измерительный комплекс для определения органических электролитов в водных растворах, содержащих хлориды калия и натрия / О. В. Бобрешова, А. В. Паршина, С. В. Тимофеев, К. А. Полуместная. № 2009115481; заявл. 23.04.2009; опубл. 27.09.2009, Бюл. № 27.
5. Зяблов А. Н., Калач А. В., Жиброва Ю. А., Селеменев В. Ф., Дьяконова О. В. Определение глицина в водных растворах пьезосенсором, модифицированным полимером с молекулярным отпечатком // Журн. аналит. химии. 2010. Т. 65, № 1. С. 93–95.

Образец для цитирования:

Чернова Р. К., Варыгина О. В., Захаревич А. М. О взаимодействии фосфорномолибденовой кислоты с α -аминокислотами и возможности применения продуктов реакции в ионометрии // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 268–273. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-268-273>

On the Interaction of the Phosphoric Molybdenum Acid with the α -Amino Acids and Possible Applications of the Reaction Products in Ionometry

R. K. Chernova, O. V. Varygina, A. M. Zakharevich

Rimma K. Chernova, <https://orcid.org/0000-0002-1693-2836>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, chernov-ia@yandex.ru

Olga V. Varygina, <https://orcid.org/0000-0003-3640-5299>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, varigini@mail.ru

Andrey M. Zakharevich, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, lab-15@mail.ru

The conditions of synthesis of ion associates of phosphorus-molybdenum ions with protonated form of lysine hydrochloride have been considered. It has been shown that the phosphoric molybdenum acid undergoes hydrolysis with the formation of the following products: $\text{HPO}_{42}^- + \text{Mo}_{12}\text{O}_{42}^- + 11\text{H}_2\text{O}$. At pH 2 in aqueous solutions, the PhMA is stable, exists as anion $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{42}]^{3-}$ and interacts with protonated form of lysine with the formation of associates $3[\text{HLys}]^+[\text{FMC}]^{3-}$. The molar ratio of lysine: PhMA = 3 : 1 was proved by potentiometric titration, these molar ratios were confirmed by the data of elemental analysis, IR spectroscopic study of the obtained associate showed the presence of a fragment -Mo-O ($\nu = 1900-500 \text{ cm}^{-1}$) and a group $-\text{NH}^3+$ ($\nu = 3500-3650 \text{ cm}^{-1}$), which indicates the ionic nature of the relationship between the PhMA anion and the lysine cation. The plasticized membrane was obtained by adding 0.050 g of dried associate 8 ml of cyclohexanone and 0.4316 g of dibutyl phthalate to the sample. Heated to 60° C and added with stirring in small portions 0.2522 g polyvinyl chloride. After dissolution of polyvinyl chloride, the finished transparent substance was placed into a Petri dish ($d = 61 \text{ mm}$) and dried in the air for three days. Then, the ion-selective membrane was attached to the carefully polished end of the graphite rod, the diameter of which corresponded to the diameter of the tube (6–8 mm). After drying before work, the electrode was conditioned for 24 hours in a 10^{-3} M lysine solution. The electrode function is linear in the concentration range of $10^{-2}-10^{-5} \text{ M}$. The morphology of phosphoric molybdenum acid and its associate with lysine was studied for the first time.

Keywords: ion-selective electrodes, α -amino acids, ion associate, phosphoric molybdenum acid.

References

1. Varygina O. V., Selifonova E. I., Chernova R. K. Sensor Systems for Determining α -Amino Acids. *Izv. Saratov Univ. (N. S.)*, Ser. Chemistry. Biology. Ecology, 2018, vol. 18, iss. 3, pp. 261–267 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-261-267
2. Bobreshova O. V. Novye potenciometricheskie sensory dlya opredeleniya aminokislot, vitaminov i lekarstvennyh veshchestv v vodnyh rastvorah [New potentiometric sensors for the determination of amino acids, vitamins and drugs in aqueous solutions]. In: *Analiticheskaya himiya – novye metody i vozmozhnosti: materialy s'ezda analitikov Rossii (Moscow, 26–30 aprelya 2010 g.)* [Analytical chemistry – new methods and possibilities: Materials of the Congress of analysts of Russia (Moscow, April 26–30, 2010)]. Moscow, Izd-vo GEOHI RAN, 2010, pp. 45–46 (in Russian).
3. Agupova M. V., Parshina A. V., Bobreshova O. V. Potenciometricheskoe opredelenie lizina monogidrochlorida v individual'nykh i smeshannykh vodnykh rastvorakh [Potentiometric determination of lysine monohydrochloride in individual and mixed aqueous solutions]. *Analiticheskaya himiya – novye metody i vozmozhnosti: materialy s'ezda analitikov Rossii (Moscow, 26–30 aprelya 2010 g.)* [Analytical chemistry – new methods and opportunities: proceedings of the Congress of analysts of Russia, 26–30 April 2010]. Moscow, Izd-vo GEOHI RAN, 2010, p. 22 (in Russian).
4. Pat. 87260 RF. *Potenciometricheskiy izmeritel'nyy kompleks dlya opredeleniya organiceskikh elektrolitov v vodnykh rastvorakh, soderzhaschikh hloridy kaliya i natriya* [Potentiometric measuring system for the determination of organic electrolytes in aqueous solutions containing chlorides of potassium and sodium]. O. V. Bobreshova, A. V. Parshina, S. V. Timofeev, K. A. Polumestnaya. № 2009115481; zayavl. 23.04.2009; opubl. 27.09.2009; byul. № 27 [Pat. 87260 Russia. No. 2009115481; appl. 23.04.2009; publ. 27.09.2009; Byul. No. 27] (in Russian).
5. Zyablov A. N., Kalach A. V., Zhibrova Yu. A., Seleznev V. F., D'yakonova O. V. Determination of glycine in aqueous solutions by piezosensors, a modified polymer with a molecular imprint. *Journal of Analytical Chemistry*, 2010, vol. 65, no. 1, pp. 93–95 (in Russian).

Cite this article as:

Chernova R. K., Varygina O. V., Zakharevich A. M. On the Interaction of the Phosphoric Molybdenum Acid with the α -Amino Acids and Possible Applications of the Reaction Products in Ionometry. *Izv. Saratov Univ. (N. S.)*, Ser. Chemistry. Biology. Ecology, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 268–273 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-268-273>



УДК 544.344.016+536.44:544.344.013–16–14+544.344.3

Аппроксимация данных для построения бинодальной кривой фазовых диаграмм некоторых тройных систем соль – вода – изопропиловый (н. пропиловый) спирт

Д. Г. Черкасов, К. К. Ильин

Черкасов Дмитрий Геннадиевич, доктор химических наук, заведующий кафедрой общей и неорганической химии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, ilink@info.sgu.ru

Ильин Константин Кузьмич, доктор химических наук, профессор кафедры общей и неорганической химии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, ilink@info.sgu.ru

Проведен краткий обзор расчетных методов для равновесия жидкость – жидкость, показаны их возможности и ограничения. Усложнение расчетных моделей для равновесия жидкость – жидкость – твердое приводит к уменьшению точности расчетов. В этом случае целесообразно обращение исследователей к аппроксимации экспериментальных данных по равновесиям жидкость – жидкость и жидкость – жидкость – твердое. Проведен обзор литературы по тройным системам соль – вода – алифатический спирт, в которых проводится аппроксимация данных по растворимости и составам равновесных жидких фаз. На основе анализа собственных экспериментальных данных по политермическому исследованию фазовых равновесий и критических явлений в семи тройных системах нитрат натрия (калия, цезия) – вода – изопропиловый спирт, хлорид (бромид, иодид) калия – вода – изопропиловый спирт, нитрат калия – вода – н. пропиловый спирт предложены эмпирические уравнения экспоненциального вида, позволившие успешно аппроксимировать данные для построения бинодальной кривой в широком интервале температур. Установлено, что найденные аппроксимации выполняются как для отдельных ветвей («водной» и «органической») бинодальной кривой, так и для нее в целом. Полученные зависимости могут быть полезны для прогнозирования изменения растворимости двух жидких фаз с температурой и упрощения моделирования бинодальной поверхности в температурно-концентрационной призме тройной системы соль – бинарный растворитель.

Ключевые слова: растворимость, фазовые равновесия, равновесие жидкость – жидкость, бинодальная кривая, аппроксимация экспериментальных данных, тройная система, изопропиловый спирт, высаливание.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-274-283>

Расчетные методы [1–4], в которых используются термодинамические соотношения, могут быть успешно использованы для расчета составов равновесных фаз в системах с равновесием жидкость – жидкость при наличии ограниченного числа экспериментальных данных.



Экспериментальное определение составов двух существующих фаз при условиях, близких к стандартным, является относительно простой задачей. Поэтому справочная литература богата результатами таких исследований для температур около 25° С и при давлении, близком к атмосферному [1]. Однако с отклонением параметров состояния от указанных значений количество экспериментально полученных данных резко снижается.

Термодинамические критерии, указывающие на возможность расслоения фаз, хорошо известны независимо от числа компонентов смеси и рассмотрены, как правило, только для бинарных систем во всех классических учебниках термодинамики. Подобный анализ может быть проведен для трех- и более компонентных систем, но требует привлечения более сложного математического аппарата. Результат такого исследования показывает, есть или нет некоторый диапазон составов, в котором существует расслоение.

Компьютерный расчет равновесия жидкость – жидкость в многокомпонентных системах – более сложная математическая задача, особенно при приближении составов к области критической точки [1]. Несмотря на то что термодинамика этого равновесия ясна, не всегда удается вывести выражение для избыточной энергии Гиббса G^E , которое было бы достаточно точным и обеспечивало получение надежных результатов. Параметры равновесия жидкость – жидкость значительно более чувствительны к малым изменениям коэффициентов активности, чем в случае равновесия жидкость – пар. Небольшие погрешности в определении этих коэффициентов могут привести к серьезным ошибкам в расчете составов равновесных фаз.

Для математического описания равновесия жидкость – жидкость [1–4] в трехкомпонентных системах чаще всего применяют методы NRTL и UNIQUAC, гораздо реже – трехпараметрическую форму уравнения Вильсона [1]. Независимо от того, какое уравнение используется, много внимания уделяют расчету исходных параметров



по экспериментальным данным, в частности, используя информацию о взаимной растворимости в бинарных системах. Для нахождения надежных результатов необходимо привлекать точные данные по растворимости компонентов в таких системах в широком диапазоне температур.

Успехи расчетных методов определения составов жидких фаз, находящихся в равновесии с твердыми фазами (жидкость – твердое, жидкость – твердое – твердое, жидкость – жидкость – твердое), скромнее [1, 4]. Лучше всего удается рассчитать растворимость малополярных соединений в неполярных растворителях. Более значимые результаты достигнуты в прогнозировании и расчете диаграмм плавкости [4–8] и фазовых равновесий в водно-солевых системах на основе уравнения Питцера [9–12]. Что же касается многокомпонентных систем, содержащих воду и твердые вещества, есть возможность рассчитывать растворимость в трехкомпонентных системах, например, вода – два углевода [13] или вода – две аминокислоты [14] при фиксированной температуре. В этих случаях используют различные модификации метода UNIQUAC.

Таким образом, комплекс термодинамических расчетных методов базируется на надежных экспериментальных результатах (базах данных), в том числе на данных по растворимости. Даже привлечение качественных начальных параметров не дает гарантии получения надежного результата, поскольку при использовании экстраполяций всегда есть шанс выйти за границы применимости используемого метода расчета [1]. Поэтому возрастает ценность эксперимента – ведь это и есть критерий оценки правильности любой математической модели.

Введение солей в водно-органические системы и необходимость учета процессов сольватации, всаливания – высаливания, возможности возникновения двухжидкофазного и монотектического состояний приводит к значительному усложнению математической модели, особенно, если речь идет о всей шкале концентраций. В этом случае оправданы отказ исследователей от прямых расчетов по термодинамическим моделям и обращение к численному моделированию и аппроксимации полученных данных для равновесия жидкость – жидкость.

По сравнению с другими органическими растворителями высаливание алифатических спиртов из их водных растворов неорганическими и органическими солями изучено наиболее подробно. Это обусловлено широкой областью практического использования спиртов и их водных растворов. Обзор литературы по тройным

системах соль – вода – алифатический спирт с расслаиванием показал наличие всего двух работ, в которых используются методы electrolyte-NRTL (учет ионного характера твердой фазы) [15] и NRTL [16] для расчета избыточной энергии Гиббса G^E и корреляции равновесий жидкость – жидкость, жидкость–твердое и жидкость – жидкость – твердое при 25° С. В наибольшем числе работ [17–34] определена растворимость двух жидких фаз чаще при одной, реже – при нескольких температурах. Для аппроксимации данных по растворимости двух жидких фаз авторы предлагают уравнения различного вида, в то время как для корреляции составов равновесных жидких фаз чаще всего применяют уравнения Отмера – Тобиаса [35] и Банкрофта [36]. Представляет интерес проведение анализа данных для построения бинодальной кривой сразу в нескольких тройных системах соль – вода – алифатический спирт в широком интервале температур для нахождения общих закономерностей в описании бинодальной кривой.

Цель настоящей работы – провести анализ данных по растворимости в ряду тройных расслаивающихся систем соль – вода – изопропиловый (н. пропиловый) спирт для выявления эмпирических закономерностей и аппроксимации данных при построении бинодальной кривой в широком интервале температур.

Материалы и методы

Для выявления закономерностей топологической трансформации фазовых диаграмм тройных систем соль – бинарный растворитель с высаливанием, в которых составляющая двойная жидкостная система не расслаивается во всем температурном интервале своего жидкого состояния, были полигермически изучены фазовые равновесия и критические явления в семи тройных системах: нитрат щелочного металла (Na, K, Cs) – вода – изопропиловый спирт [37–40], нитрат калия – вода – н-пропиловый спирт [41] и хлорид (бромид, иодид) калия – вода – изопропиловый спирт [42, 43] (табл. 1).

Влияние солей-высаливателей на двойные гомогенные жидкостные системы исследуется уже более ста лет [44], однако полученные результаты до сих пор не представляют целостной картины и не позволяют провести комплексный анализ данных для построения бинодальной кривой. Следует отметить, что большинство тройных систем соль – бинарный растворитель изучено при одной или нескольких температурах, что не позволило определить температуру начала расслаивания (температуру образования



критической ноды монотектического состояния t_{KS}). Подобные выводы следуют из анализа литературных данных (см. табл. 1). Только для систем № 2 и 4 установлена температура начала расслаивания точно (47.2°C) и приближенно ($25.0\text{--}25.4^{\circ}\text{C}$) соответственно. Выше этой температуры в каждой тройной системе наблюдается

расслаивание в смеси компонентов и наличие бинодальной кривой на изотермической фазовой диаграмме; поэтому нахождение t_{KS} является принципиально важным для данного исследования. Системы № 1, 3, 5, 7 изучены при одной или нескольких температурах, а системы № 4, 6 до наших работ совсем не были исследованы.

Таблица 1 / Table 1

Тройные системы соль – вода – алифатический спирт, изученные в настоящей работе
The Ternary Systems Salt – Water – Aliphatic Alcohol Studied in This Work

№	Система / System	Наши исследования / Our research			Другие исследования / Other research	
		$t, ^{\circ}\text{C}$	$t_{KS}, ^{\circ}\text{C}$	Ссылка	$t, ^{\circ}\text{C}$	Ссылка
1	Нитрат натрия – вода – изопропиловый спирт / Sodium nitrate – water – isopropyl alcohol	5–90	6.1	[37]	25	[17]
2	Нитрат калия – вода – изопропиловый спирт / Potassium nitrate – water – isopropyl alcohol	25–90	47.2	[38]	25–75	[45]
3	Нитрат цезия – вода – изопропиловый спирт / Cesium nitrate – water – isopropyl alcohol	70–120	79.0	[39]	25, 35, 45	[31]
4	Нитрат калия – вода – н-пропиловый спирт / Potassium nitrate – water – <i>N</i> -propyl alcohol	25–80	32.1	[41]	–	–
5	Хлорид калия – вода – изопропиловый спирт / Potassium chloride – water – isopropyl alcohol	10–120	24.4	[42]	16, 25, 35 25 15, 25.4, 25.6, 26, 28, 30, 40	[18] [17, 19] [20]
6	Бромид калия – вода – изопропиловый спирт / Potassium bromide – water – isopropyl alcohol	10–120	32.9	[42]	–	–
7	Иодид калия – вода – изопропиловый спирт / Potassium iodide – water – isopropyl alcohol	10–120	97.0	[43]	25	[46]

Фазовые равновесия и критические явления исследованы в смесях компонентов ряда сечений в каждой тройной системе № 1–7 визуально-политермическим методом в широком интервале температур (см. табл. 1). Во всех тройных системах определены температура образования критической ноды монотектического состояния (см. табл. 1) и зависимость состава критического раствора равновесия жидкость – жидкость от температуры.

Результаты определения растворимости компонентов всех изученных тройных систем приведены в статьях [37–39, 41–43]. Сравнительный анализ результатов политермического исследования всех исследованных систем (см. табл. 1) выявил аналогию в топологической трансформации их фазовых диаграмм с изменением

температуры. Поэтому мы ограничимся кратким рассмотрением изотермических диаграмм только для одной тройной системы № 1 (рис. 1 [37]).

При температурах от 5.0 до 6.1°C в системе наблюдается простая растворимость нитрата натрия в смесях воды и изопропилового спирта. Например, на изотерме при 5.0°C существует поле гомогенных растворов l , отделенное линией растворимости (1) от поля насыщенных растворов $l + S$. При 6.1°C на линии растворимости (2) появляется критическая точка K . Критическая жидккая фаза K находится в равновесии с твердой фазой S (NaNO_3), и возникает критическая нода KS монотектического состояния. С повышением температуры, как видно из изотермы при 10.0°C (см. рис. 1), критическая нода трансформируется в монотектический треугольник $l_1 + l_2 + S$ с примы-

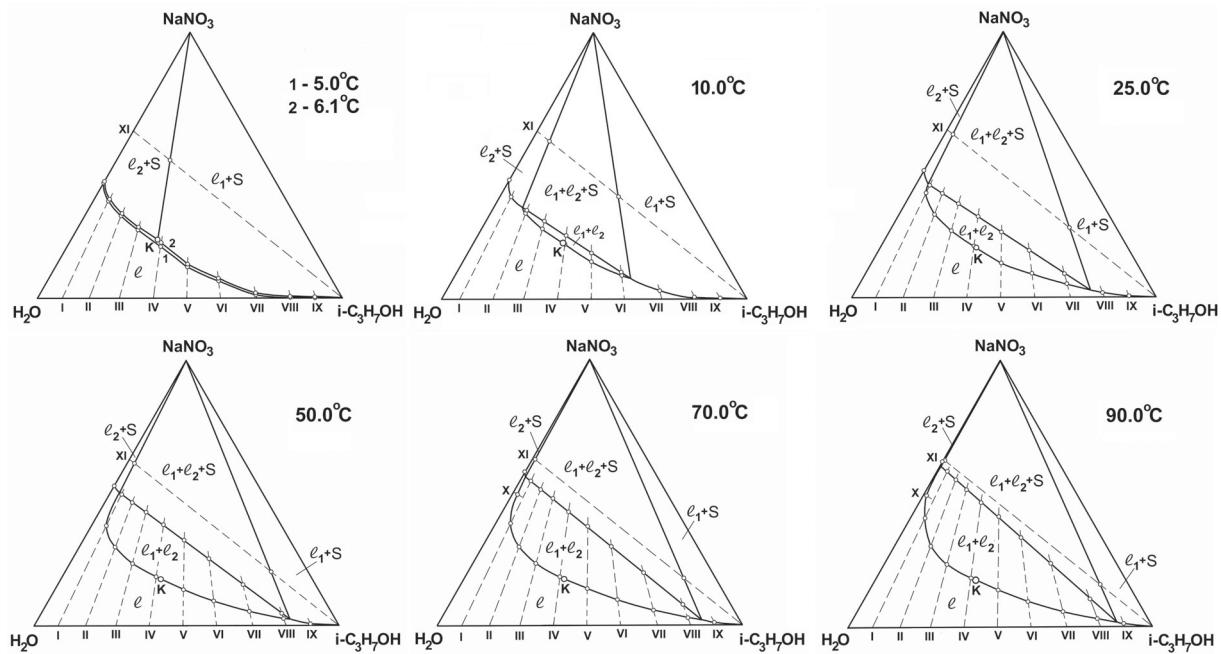


Рис. 1. Изотермы фазовых состояний (мас. %) системы нитрат натрия – вода – изопропиловый спирт при 5.0, 6.1, 10.0, 25.0, 50.0, 70.0 и 90.0 °C [37]

Fig. 1. The isotherms of the phase states (wt. %) of the sodium nitrate – water – isopropyl alcohol system at 5.0, 6.1, 10.0, 25.0, 50.0, 70.0, and 90.0 °C [37]

кающими к нему полями насыщенных растворов l_1+S , l_2+S и небольшим полем расслоения l_1+l_2 с критической точкой K . С дальнейшим повышением температуры качественных изменений на изотермах фазовых состояний системы не происходит (изотермы при 25.0, 50.0, 70.0 и 90.0 °C), но размеры поля расслоения увеличиваются, а полей насыщенных растворов – уменьшаются.

Коэффициенты распределения спирта в каждой тройной системе № 1–7 рассчитывали как отношение его концентраций в органической и водной фазах монотектики при различных температурах. Во всех системах коэффициент распределения возрастает с повышением температуры, что свидетельствует об усилении эффекта выталкивания спирта из его водных растворов солью.

Результаты и их обсуждение

Для аналитического описания ветвей бинодальной кривой в некоторых тройных системах соль – вода – изопропиловый спирт при 25° С авторы работы [17] предложили уравнение вида

$$y = a + b(10)^{-cx}, \quad (1)$$

где y – массовая доля (в процентах) изопропилового спирта в смесях, соответствующих точкам бинодальной кривой; x – массовая доля

(в процентах) соли в смесях, соответствующих точкам бинодальной кривой; a , b , c – некоторые коэффициенты.

Для смесей компонентов, принадлежащих «водной» и «органической» ветвям бинодальной кривой, отвечает свой набор численных коэффициентов. Авторы отметили, что для ряда солей коэффициент a равен 0.

По аналогии нами была проведена обработка численных данных, описывающих координаты точек бинодальной кривой в системе нитрат натрия – вода – изопропиловый спирт при 25° С [37]. Было установлено, что зависимость содержания спирта от содержания соли в смесях компонентов, принадлежащих как «водной», так и «органической» ветви бинодальной кривой, более корректно описывается уравнением вида

$$y = ae^{-bx}, \quad (2)$$

где y – содержание спирта (мас. %) в смесях компонентов; a , b – численные коэффициенты; x – содержание соли (мас. %) в смесях компонентов.

Затем была предпринята попытка описать состав всех смесей компонентов, отвечающих точкам бинодальной кривой, с помощью уравнения (2). В табл. 2 приведены значения коэффициентов a , b и величины достоверности аппроксимации R^2 для смесей компонентов в этой тройной системе при 25° С.

Таблица 2 / Table 2

Значения коэффициентов a , b и величины достоверности аппроксимации R^2 в уравнении (2) для составов смесей, отвечающих точкам бинодальной кривой тройной системы нитрат натрия – вода – изопропиловый спирт при 25° С

The Values of the Coefficients a , b and the Accuracy of the Approximation R^2 in Equation (2) for Mixtures of Compositions that Correspond to the Points of the Binodal Curve of the Sodium Nitrate – Water – Isopropyl Alcohol Ternary System at 25° C

	Водная фаза / Water phase	Органическая фаза / Organic phase	Бинодальная кривая / Binodal curve
a	171.90	94.46	117.24
b	0.0871	0.0562	0.0752
R^2	0.9956	0.9966	0.9857

Судя по величине достоверности аппроксимации ($R^2 > 0.98$, см. табл. 2), уравнение (2) хорошо описывает составы смесей, принадлежащих как «водной», так и «органической» ветвям, а также всей бинодальной кривой. Эксперимен-

тальные точки бинодальной кривой и кривые, полученные по уравнению (2) с использованием коэффициентов из табл. 2, для системы нитрат натрия – вода – изопропиловый спирт при 25° С представлены на рис. 2.

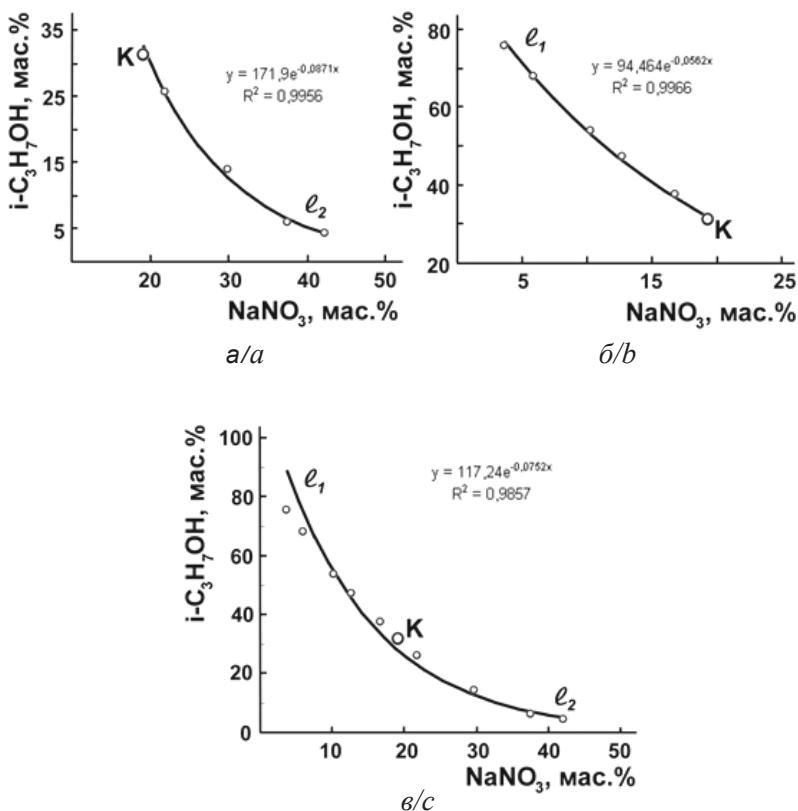


Рис. 2. Корреляционные кривые, описывающие зависимость содержания изопропилового спирта от содержания нитрата натрия в смесях компонентов, отвечающих точкам бинодальной кривой тройной системы нитрат натрия – вода – изопропиловый спирт: a – для водной фазы, b – для органической фазы, c – для всей бинодальной кривой

Fig. 2. Correlation curves describing the dependence of the content of isopropyl alcohol on the content of sodium nitrate in mixtures of components corresponding to the points of the binodal curve of the sodium nitrate – water – isopropyl alcohol ternary system: a – for the aqueous phase, b – for the organic phase, c – for the entire binodal curve



Затем были проанализированы данные для построения бинодальных кривых в изученных тройных системах № 1–7 в широких температурных интервалах. Полученные значения коэф-

фициентов a и b в уравнении (2) при различных температурах для указанных тройных систем соль – бинарный растворитель представлены в табл. 3–5.

Таблица 3 / Table 3

Значения коэффициентов a и b в уравнении (2) для составов смесей, отвечающих точкам бинодальных кривых тройных систем нитрат щелочного металла (Na, K, Cs) – вода – изопропиловый спирт при различных температурах ($R^2 > 0.98$)

The Values of the Coefficients a and b in Equation (2) for Compositions of Mixtures Corresponding to the Points of Binodal Curves of Ternary Systems Alkali Metal Nitrates (Na, K, Cs) – Water – Isopropyl Alcohol at Different Temperatures ($R^2 > 0.98$)

NaNO ₃			KNO ₃			CsNO ₃		
$t, ^\circ\text{C}$	a	b	$t, ^\circ\text{C}$	a	b	$t, ^\circ\text{C}$	a	b
25.0	111.33	0.075	50.0	102.49	0.070	90.0	114.20	0.049
50.0	117.66	0.081	60.0	94.175	0.068	100.0	109.45	0.048
70.0	127.55	0.085	70.0	89.283	0.064	110.0	111.97	0.048
80.0	131.53	0.087	80.0	88.339	0.063	120.0	111.35	0.048
90.0	156.21	0.094	90.0	92.334	0.066			

Таблица 4 / Table 4

Значения коэффициентов a и b в уравнении (2) для составов смесей, отвечающих точкам бинодальной кривой тройной системы нитрат калия – вода – н-пропиловый спирт при различных температурах ($R^2 > 0.98$)

The Values of the Coefficients a and b in Equation 2 for Compositions of Mixtures Corresponding to Points of the Binodal Curve of the Ternary System of Potassium Nitrate – Water – N-Propyl Alcohol at Different Temperatures ($R^2 > 0.98$)

$t, ^\circ\text{C}$	a	b
35.0	89.24	0.083
50.0	90.72	0.080
80.0	93.79	0.071

Таблица 5 / Table 5

Значения коэффициентов a и b в уравнении (2) для составов смесей, отвечающих точкам бинодальных кривых тройных систем хлорид (бромид) калия – вода – изопропиловый спирт при различных температурах ($R^2 > 0.98$)

The Values of the Coefficients a and b in Equation (2) for the Compositions of Mixtures Corresponding to the Points of the Binodal Curves of The Potassium Chloride (Bromide) Potassium – Water – Isopropyl Alcohol Ternary Systems at Different Temperatures ($R^2 > 0.98$)

KCl			KBr		
$t, ^\circ\text{C}$	a	b	$t, ^\circ\text{C}$	a	b
25.0	101.6	0.101	50	126.7	0.070
50.0	95.29	0.106	80	121.0	0.074
80.0	86.98	0.101	100	117.1	0.072
100.0	86.88	0.100	120	114.5	0.071
120.0	87.51	0.098			

В тройной системе № 7 вследствие слабого высаливающего действия иодида калия бинодальная кривая очень короткая, поэтому описать ее корректно с помощью уравнения (2) не удалось.

Установлено, что во всех описанных уравнением (2) тройных системах коэффициент a значительно меняется с температурой, а коэффициент b остается практически постоянным. Этот факт может оказаться важным для прогнозирования

растворимости двух жидких фаз с изменением температуры с помощью уравнения (2) и упрощения моделирования бинодальной поверхности в температурно-концентрационной призме тройных систем соль – бинарный растворитель.

Список литературы

1. Poling B. E., Prausnitz J. M., O'Connell J. P. Properties of Gases and Liquids / 5th ed. N.Y. : McGraw-Hill, 2001. 747 p.
2. Prausnitz J. M. Computer Calculations for Multicomponent Vapor-Liquid and Liquid-Liquid Equilibria. N. J. : Prentice-Hall : Englewood Cliffs, 1980. 353 p.
3. Смирнова Н. А. Молекулярные теории растворов. Л. : Химия, 1987. 336 с.
4. Уэйлес С. Фазовые равновесия в химической технологии : в 2 ч. / пер. с англ.; под ред. В. С. Бескова. М. : Мир, 1989. 664 с.
5. CALPHAD (CALculation of PHAse Diagrams): a comprehensive guide by N. Saunders and A. P. Miodownik, Pergamon Materials Series / ed. R.W. Cahn. 1998. Vol. 1. 473 p.
6. Афиногенов Ю. П., Гончаров Е. Г., Семенов Г. В., Зломанов В. П. Физико-химический анализ много-компонентных систем : учеб. пособие. М. : МФТИ, 2006. 332 с.
7. Lukas H. L., Fries S. G., Sundman B. Computational Thermodynamics, the Calphad Method. Cambridge : Cambridge University Press, 2007. 324 p.
8. Морачевский А. Г. Термодинамика расплавленных металлических и солевых систем. М. : Металлургия, 1987. 240 с.
9. Pitzer K. S. Thermodynamics of Electrolytes. I. Theoretical basis and general equations // J. Phys. Chem. 1973. Vol. 77, № 2. P. 268–277.
10. Pitzer K. S., Mayorga G. Thermodynamics of Electrolytes, II. Activity and osmotic coefficients with one or both ions univalent // J. Phys. Chem. 1973. Vol. 77, № 19. P. 2300–2308.
11. Pitzer K. S., Mayorga G. Thermodynamics of Electrolytes. III. Activity and osmotic coefficients for 2–2 electrolytes // J. Solution Chem. 1974. Vol. 3, № 7. P. 539–546.
12. Pitzer K. S., Kim J. J. Thermodynamics of electrolytes. IV. Activity and osmotic coefficients for mixed electrolytes // J. Am. Chem. Soc. 1974. Vol. 96, № 18. P. 5701–5707.
13. Peres A. M., Macedo E. A. Thermodynamic properties of sugars in aqueous solutions: correlation and prediction using a modified UNIQUAC model // Fluid Phase Equil. 1996. Vol. 123, № 1–2. P. 71–95.
14. Larsen B. L., Rasmussen P., Fredenslund A. A modified UNIFAC group-contribution model for prediction of phase equilibria and heats of mixing // Ind. Eng. Chem. Res. 1987. Vol. 26, № 11. P. 2274–2286.
15. Olaya M. M., Marcilla A., Serrano M. D., Botella A., Reyes-Labarta J. A. Simultaneous Correlation of Liquid-Liquid, Liquid-Solid, and Liquid-Liquid-Solid Equilibrium Data for Water + Organic Solvent + Salt Ternary Systems. Anhydrous Solid Phase // Ind. Eng. Chem. Res. 2007. Vol. 46. P. 7030–7037.
16. Marcilla A., Reyes-Labarta J. A., Olaya Maria del Mar, Serrano Maria D. Simultaneous Correlation of Liquid-Liquid, Liquid-Solid, and Liquid-Liquid-Solid Equilibrium Data for Water + Organic Solvent + Salt Ternary Systems: Hydrated Solid Phase Formation // Ind. Eng. Chem. Res. 2008. Vol. 47. P. 2100–2108.
17. Ginnings P. M., Chen Z. T. Ternary systems: water, isopropanol and salts at 25° // J. Am. Chem. Soc. 1931. Vol. 53, № 10. P. 3765–3769.
18. Ferner S. W., Mellon M. G. Analytical uses of 2-propanol // Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. 1934. Vol. 6, № 5. P. 345–348.
19. Gomis V., Ruiz F., Vera G. De, Lopez E., Saquete M. D. Liquid-liquid-solid equilibria for the ternary systems water-sodium chloride or potassium chloride - 1-propanol or 2-propanol // Fluid Phase Equilibria. 1994. Vol. 98, № 1–2. P. 141–147.
20. Gomis V., Ruiz F., Boluda N., Saquete M. D. The influence of temperature on the liquid – liquid – solid equilibrium of the ternary system water – potassium chloride – 2 – propanol // Fluid Phase Equilibria. 1997. Vol. 130, № 1–2. P. 223–229.
21. Hu M. C., Zhai Q. G., Liu Z. H., Xia S. P. Liquid-liquid and solid-liquid equilibrium of the ternary system ethanol + cesium sulfate + water at (10, 30, and 50)° C // J. Chem. Eng. Data. 2003. Vol. 48. P. 1561–1564.
22. Gomis V., Ruiz F., Asensi J. C., Cayuela P. Liquid-liquid-solid equilibria for the ternary systems water-lithium chloride-1-propanol or 2-propanol at 25° C // Fluid Phase Equilib. 1996. Vol. 119. P. 191–195.
23. Gomis V., Ruiz F., Vera G. de, Lopez E., Saquete M. D. Liquid-liquid-solid equilibria for the ternary systems water-sodium chloride or potassium chloride-1-propanol or 2-propanol // Fluid Phase Equilib. 1994. Vol. 98. P. 141–147.
24. Taboada M. E. Liquid-liquid and liquid-solid equilibrium of the 1-propanol + lithium sulfate + water system at 25, 35 and 45°C // Fluid Phase Equilib. 2003. Vol. 204. P. 155–165.
25. Zafarani-Moattar M. T., Salabat A. Phase Diagrams of Aliphatic Alcohols + Magnesium Sulfate + Water // J. Chem. Eng. Data. 1997. Vol. 42. P. 1241–1243.
26. Brenner D. K., Anderson E. W., Lynn S., Prausnitz J. M. Liquid-Liquid Equilibria for Saturated Aqueous Solutions of Sodium Sulfate + 1-Propanol, 2-Propanol, or 2-Methylpropan-2 // J. Chem. Eng. Data. 1992. Vol. 37. P. 419–422.
27. Zafarani-Moattar M. T., Gasemi J. Phase Diagrams of Some Aliphatic Alcohols + Ammonium Dihydrogen Phosphate or Diammonium Hydrogen Phosphate + Water // J. Chem. Eng. Data. 2002. Vol. 47. P. 525–528.
28. Santis R. de, Marrelli L., Muscetta P. N. Influence of Temperature on the Liquid-Liquid Equilibrium of the Water-n-Butyl Alcohol-Sodium Chloride System // J. Chem. Eng. Data. 1976. Vol. 21. P. 324–327.
29. Ginnings P. M., Herring E., Webb B. Ternary Systems : Water, Tertiary Butanol and Salts at 25° // J. Am. Chem. Soc. 1933. Vol. 55. P. 875–878.
30. Hu M., Zhai Q., Jiang Y., Liu Z. Solid-Liquid Phase Equilibria of Some Aliphatic Alcohols + Cesium Sulfate + Water // J. Chem. Eng. Data. 2004. Vol. 49. P. 1070–1073.

31. *Hu M., Jin L., Jiang Y., Li S., Zhai Q.* Solubility of Cesium Nitrate in Aqueous Alcohol Solutions at (25, 35, and 45) °C // *J. Chem. Eng. Data.* 2005. Vol. 50. P. 1361–1364.
32. *Hu M., Jin L., Li Shu 'ni, Jiang Y.* Equilibrium Phase Behavior of Water + Propan-1-ol or Propan-2-ol + Cesium Chloride at (298.15, 308.15, and 318.15) K // *J. Chem. Eng. Data.* 2005. Vol. 50. P. 2049–2052.
33. *Arzideh S. M., Movaghfarnejad K., Pirdashhti M.* Influence of the Temperature, Type of Salt, and Alcohol on Phase Diagrams of 2-Propanol + Inorganic Salt Aqueous Two-Phase Systems: Experimental Determination and Correlation // *J. Chem. Eng. Data.* 2018. Vol. 63. P. 2813–2824.
34. *Katayama H., Sugahara K.* Liquid–Liquid Phase Equilibria of the System Ethanol (1) + Water (2) + Tripotassium Citrate (3) // *J. Chem. Eng. Data.* 2008. Vol. 53. P. 1940–1943.
35. *Othmer D. F., Tobias P. E.* Toluene and acetaldehyde systems: tie line correlation; partial pressures of ternary liquid systems and the prediction of tie lines // *Ind. Eng. Chem.* 1942. Vol. 34. P. 690–700.
36. *Bancroft W. D.* Ternary mixtures, III // *J. Phys. Chem.* 1897. Vol. 1, № 7. P. 403–410.
37. *Черкасов Д. Г., Ильин К. К., Курский В. Ф.* Топологическая трансформация фазовой диаграммы тройной системы нитрат натрия – вода – изопропиловый спирт // *Журн. неорг. химии.* 2011. Т. 56, № 5. С. 838–842.
38. *Синегубова С. И., Ильин К. К., Черкасов Д. Г., Курский В. Ф., Ткаченко Н. В.* Высаливание изопропилового спирта из водных растворов нитратом калия // *Журн. прикл. химии.* 2004. Т. 77, № 12. С. 1945–1949.
39. *Черкасов Д. Г., Курский В. Ф., Синегубова С. И., Ильин К. К.* Топологическая трансформация фазовой
- диаграммы тройной системы нитрат цезия–вода–изопропиловый спирт // *Журн. неорг. химии.* 2009. Т. 54, № 6. С. 1032–1036.
40. *Ильин К. К., Черкасов Д. Г., Курский В. Ф.* Сравнительная характеристика высаливающего действия нитратов щелочных металлов на двойную систему вода–изопропиловый спирт // *Журн. неорг. химии.* 2011. Т. 56, № 10. С. 1750–1753.
41. *Синегубова С. И., Черкасов Д. Г., Ильин К. К.* Высаливание н.пропилового спирта из водных растворов нитратом калия // *Журн. прикл. химии.* 2005. Т. 78, № 3. С. 398–402.
42. *Ильин К. К., Черкасов Д. Г., Якушев С. А.* Политермическое исследование высаливания изопропилового спирта из водных растворов хлоридом и бромидом калия // *Журн. общ. химии.* 1998. Т. 68, № 2. С. 250–256.
43. *Il'in K. K., Cherkasov D. G.* Solid–Liquid and Solid–Liquid–Liquid Equilibria in the $KI + H_2O + i-C_3H_7OH$ Ternary System within 10–120°C // *Chem. Eng. Commun.* 2016. Vol. 203, iss. 5. P. 642–648. DOI: 10.1080/00986445.2015.1076802.
44. *Snell J. F.* Potassium chlorid in aqueous acetone // *J. Phys. Chem.* 1898. Vol. 2, № 8. P. 457–491.
45. *Thompson A. R., Molstad M. C.* Solubility and Density Isotherms – Potassium and Ammonium Nitrates in Iso-propanol Solutions // *Ind. Eng. Chem.* 1945. Vol. 37, № 12. P. 1244–1248.
46. *Варламова Т. М., Герасимова Г. В., Антонова Е. В., Голубничева Е. М.* Растворимость иодида калия в водно-спиртовых смесях // Химические науки-2006 : сб. науч. тр. Вып. 3. Саратов : Научная книга, 2006. С. 32–35.

Образец для цитирования:

Черкасов Д. Г., Ильин К. К. Апроксимация данных для построения бинодальной кривой фазовых диаграмм некоторых тройных систем соль – вода – изопропиловый (н.пропиловый) спирт // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 274–283. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-274-283>

Data Approximation for Plotting the Binodal Curve on the Phase Diagrams of Some Ternary Salt – Water – Isopropyl (*n*-Propyl) Alcohol Systems

D. G. Cherkasov, K. K. Il'in

Dmitry G. Cherkasov, <https://orcid.org/0000-0002-6862-1917>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, ilinkk@info.sgu.ru

Konstantin K. Il'in, <https://orcid.org/0000-0002-8359-8874>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, ilinkk@info.sgu.ru

A brief review of computational methods for the liquid-liquid equilibrium has been carried out, and their capabilities and limitations have been shown. Complications of such computational models for the liquid–liquid–solid equilibrium lead to a decreased accuracy of calculations. In this case, it is advisable for researchers to make use of the approximation of experimental data on the liquid – liquid

and liquid – liquid – solid equilibria. A literature review on the ternary salt – water – aliphatic alcohol systems is carried out, where solubility data and the compositions of equilibrium liquid phases were approximated. Based on the analysis of our own experimental data from a polythermal study of phase equilibria and critical phenomena in seven ternary systems sodium (potassium, cesium) nitrate – water – isopropyl alcohol, potassium chloride (bromide, iodide) – water – isopropyl alcohol, potassium nitrate – water – *N*-propyl alcohol, exponential-type empirical equations are proposed, which made it possible to successfully approximate our data for plotting the binodal curve in a wide temperature range. The approximations found were established to be satisfied for the individual branches (the water and organic ones) of the binodal curve as well as for it as a whole. The dependences obtained can be useful for predicting changes in the solubility of two liquid phases with temperature and for facilitating the modeling of the binodal surface within the temperature – concentration prism of the ternary salt – binary solvent system.

Keywords: solubility, phase equilibria, liquid- liquid equilibrium, binodal curve, approximation of experimental data, ternary system, isopropyl alcohol, salting-out.

References

1. Poling B. E., Prausnitz J. M., O'Connell J. P. *Properties of Gases and Liquids*. 5th ed. New York, McGraw-Hill, 2001. 747 p.
2. Prausnitz J. M. *Computer Calculations for Multicomponent Vapor-Liquid and Liquid-Liquid Equilibria*. New Jersey, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, 1980. 353 p.
3. Smirnova N. A. *Molekuljarnye teorii rastvorov* [Molecular theory of solutions]. Leningrad, Khimiya Publ., 1987. 336 p. (in Russian).
4. Walas S. M. *Phase Equilibria In Chemical Engineering*. Butterworth-Heinemann, 1984. 671 p.
5. CALPHAD (CALculation of PHAsic Diagrams): a comprehensive guide by N. Saunders and A. P. Miodownik. Pergamon Materials Series, Editor R. W. Cahn. 1998. Vol. 1. 473 p.
6. Afinogenov Yu. P., Goncharov E. G., Semyonov G. V., Zlomanov V. P. *Fiziko-khimicheskiy analiz mnogokomponentnykh sistem* [Physicochemical analysis of multi-component systems]. Moscow, MPTI, 2006. 332 p. (in Russian).
7. Lukas H. L., Fries S. G., Sundman B. *Computational Thermodynamics, the Calphad Method*. Cambridge University Press, 2007. 324 p.
8. Morachevsky A. G. *Termodinamika rasplavlennykh metallicheskikh i soleykh sistem* [Thermodynamics of molten metal and salt systems]. Moscow, Metallurgiya Publ., 1987. 240 p. (in Russian).
9. Pitzer K. S. Thermodynamics of Electrolytes. I. Theoretical basis and general equations. *J. Phys. Chem.*, 1973, vol. 77, no. 2, pp. 268–277.
10. Pitzer K. S., Mayorga G. Thermodynamics of Electrolytes, II. Activity and osmotic coefficients with one or both ions univalent. *J. Phys. Chem.*, 1973, vol. 77, no. 19, pp. 2300–2308.
11. Pitzer K. S., Mayorga G. Thermodynamics of Electrolytes. III. Activity and osmotic coefficients for 2–2 electrolytes. *J. Solution Chem.*, 1974, vol. 3, no. 7, pp. 539–546.
12. Pitzer K. S., Kim J. J. Thermodynamics of electrolytes. IV. Activity and osmotic coefficients for mixed electrolytes. *J. Am. Chem. Soc.*, 1974, vol. 96, no. 18, pp. 5701–5707.
13. Peres A. M., Macedo E. A. Thermodynamic properties of sugars in aqueous solutions: correlation and prediction using a modified UNIQUAC model. *Fluid Phase Equil.*, 1996, vol. 123, no. 1–2, pp. 71–95.
14. Larsen B. L., Rasmussen P., Fredenslund A. A modified UNIFAC group-contribution model for prediction of phase equilibria and heats of mixing. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 1987, vol. 26, no. 11, pp. 2274–2286.
15. Olaya M. M., Marcilla A., Serrano M. D., Botella A., Reyes-Labarta J. A. Simultaneous Correlation of Liquid-Liquid, Liquid-Solid, and Liquid-Liquid-Solid Equilibrium Data for Water + Organic Solvent + Salt Ternary Systems. Anhydrous Solid Phase. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2007, vol. 46, pp. 7030–7037.
16. Marcilla A., Reyes-Labarta J. A., Olaya Maria del Mar, Serrano Maria D. Simultaneous Correlation of Liquid-Liquid, Liquid-Solid, and Liquid-Liquid-Solid Equilibrium Data for Water + Organic Solvent + Salt Ternary Systems: Hydrated Solid Phase Formation. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2008, vol. 47, pp. 2100–2108.
17. Ginnings P. M., Chen Z. T. Ternary systems: water, isopropanol and salts at 25°. *J. Am. Chem. Soc.*, 1931, vol. 53, no. 10, pp. 3765–3769.
18. Ferner S. W., Mellon M. G. Analytical uses of 2-propanol. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 1934, vol. 6, no. 5, pp. 345–348.
19. Gomis V., Ruiz F., Vera G. De, Lopez E., Saquete M. D. Liquid-liquid-solid equilibria for the ternary systems water-sodium chloride or potassium chloride – 1-propanol or 2-propanol. *Fluid Phase Equilibria*, 1994, vol. 98, no. 1–2, pp. 141–147.
20. Gomis V., Ruiz F., Boluda N., Saquete M. D. The influence of temperature on the liquid – liquid – solid equilibrium of the ternary system water – potassium chloride – 2 – propanol. *Fluid Phase Equilibria*, 1997, vol. 130, no. 1–2, pp. 223–229.
21. Hu M. C., Zhai Q. G., Liu Z. H., Xia S. P. Liquid-liquid and solid-liquid equilibrium of the ternary system ethanol + cesium sulfate + water at (10, 30, and 50)° C. *J. Chem. Eng. Data*, 2003, vol. 48, pp. 1561–1564.
22. Gomis V., Ruiz F., Asensi J. C., Cayuela P. Liquid-liquid-solid equilibria for the ternary systems water-lithium chloride-1-propanol or 2-propanol at 25°C. *Fluid Phase Equilib.*, 1996, vol. 119, pp. 191–195.
23. Gomis V., Ruiz F., de Vera G., Lopez E., Saquete M. D. Liquid-liquid-solid equilibria for the ternary systems water-sodium chloride or potassium chloride-1-propanol or 2-propanol. *Fluid Phase Equil.*, 1994, vol. 98, pp. 141–147.
24. Taboada M. E. Liquid-liquid and liquid-solid equilibrium of the 1-propanol + lithium sulfate + water system at 25, 35 and 45°C. *Fluid Phase Equil.*, 2003, vol. 204, pp. 155–165.
25. Zafarani-Moattar M. T., Salabat A. Phase Diagrams of Aliphatic Alcohols + Magnesium Sulfate + Water. *J. Chem. Eng. Data*, 1997, vol. 42, pp. 1241–1243.
26. Brenner D. K., Anderson E. W., Lynn S., Prausnitz J. M. Liquid-Liquid Equilibria for Saturated Aqueous Solutions of Sodium Sulfate + 1-Propanol, 2-Propanol, or 2-Methylpropan-2. *J. Chem. Eng. Data*, 1992, vol. 37, pp. 419–422.
27. Zafarani-Moattar M. T., Gasemi J. Phase Diagrams of Some Aliphatic Alcohols + Ammonium Dihydrogen Phosphate or Diammonium Hydrogen Phosphate + Water. *J. Chem. Eng. Data*, 2002, vol. 47, pp. 525–528.
28. Santis R. de, Marrelli L., Muscetta P. N. Influence of Temperature on the Liquid-Liquid Equilibrium of the Water-n-Butyl Alcohol-Sodium Chloride System. *J. Chem. Eng. Data*, 1976, vol. 21, pp. 324–327.
29. Ginnings P. M., Herring E., Webb B. Ternary Systems: Water, Tertiary Butanol and Salts at 25°. *J. Am. Chem. Soc.*, 1933, vol. 55, pp. 875–878.
30. Hu M., Zhai Q., Jiang Y., Liu Z. Solid-Liquid Phase Equilibria of Some Aliphatic Alcohols + Cesium Sulfate + Water. *J. Chem. Eng. Data*, 2004, vol. 49, pp. 1070–1073.

31. Hu M., Jin L., Jiang Y., Li S., Zhai Q. Solubility of Cesium Nitrate in Aqueous Alcohol Solutions at (25, 35, and 45) °C. *J. Chem. Eng. Data*, 2005, vol. 50, pp. 1361–1364.
32. Hu M., Jin L., Li Shu’ni, Jiang Y. Equilibrium Phase Behavior of Water + Propan-1-ol or Propan-2-ol + Cesium Chloride at (298.15, 308.15, and 318.15) K. *J. Chem. Eng. Data*, 2005, vol. 50, pp. 2049–2052.
33. Arzideh S. M., Movagharnejad K., Pirdashti M. Influence of the Temperature, Type of Salt, and Alcohol on Phase Diagrams of 2-Propanol + Inorganic Salt Aqueous Two-Phase Systems: Experimental Determination and Correlation. *J. Chem. Eng. Data*, 2018, vol. 63, pp. 2813–2824.
34. Katayama H., Sugahara K. Liquid–Liquid Phase Equilibria of the System Ethanol (1) + Water (2) + Tripotassium Citrate (3). *J. Chem. Eng. Data*, 2008, vol. 53, pp. 1940–1943.
35. Othmer D. F., Tobias P. E. Toluene and acetaldehyde systems: tie line correlation; partial pressures of ternary liquid systems and the prediction of tie lines. *Ind. Eng. Chem.*, 1942, vol. 34, pp. 690–700.
36. Bancroft W. D. Ternary mixtures, III. *J. Phys. Chem.*, 1897, vol. 1, no. 7, pp. 403–410.
37. Cherkasov D. G., Il’in K. K., Kurskii V. F. Topological transformation of a phase diagram for the sodium nitrate–water–isopropanol ternary system. *Russ. J. Inorg. Chem.*, 2011, vol. 56, no. 5, pp. 787–791 (in Russian).
38. Sinegubova S. I., Il’in K. K., Cherkasov D. G., Kurskii V. F., Tkachenko N. V. Salting-out of isopropyl alcohol from aqueous solutions with potassium nitrate. *Russ. J. Applied Chem.*, 2004, vol. 77, no. 12, pp. 1924–1928 (in Russian).
39. Cherkasov D. G., Kurskii V. F., Sinegubova S. I., Il’in K. K. Topological transformation of the cesium nitrate–water–isopropanol ternary phase diagram. *Russ. J. Inorg. Chem.*, 2009, vol. 54, no. 6, pp. 969–973 (in Russian).
40. Il’in K. K., Cherkasov D. G., Kurskii V. F. Comparing the salting-out effects of alkali-metal nitrates on the water–isopropanol system. *Russ. J. Inorg. Chem.*, 2011, vol. 56, no. 10, pp. 1670–1673 (in Russian).
41. Sinegubova S. I., Cherkasov D. G., Il’in K. K. Salting-out of n-propyl alcohol with potassium nitrate from aqueous solutions. *Russ. J. Applied Chem.*, 2005, vol. 78, no. 3, pp. 394–398 (in Russian).
42. Il’in K. K., Cherkasov D. G., Yakushev S. A. Polythermal study of salting-out of isopropyl alcohol from aqueous solutions with potassium chloride and bromide. *Russ. J. Gen. Chem.*, 1998, vol. 68, no. 2, pp. 227–233 (in Russian).
43. Il’In K. K., Cherkasov D. G. Solid – Liquid and Solid – Liquid – Liquid Equilibria in the $\text{KI} + \text{H}_2\text{O} + \text{i-C}_3\text{H}_7\text{OH}$ Ternary System within 10–120° C. *Chem. Eng. Commun.*, 2016, vol. 203, iss. 5, pp. 642–648. DOI: 10.1080/00986445.2015.1076802
44. Snell J. F. Potassium chlorid in aqueous acetone. *J. Phys. Chem.*, 1898, vol. 2, no. 8, pp. 457–491.
45. Thompson A. R., Molstad M. C. Solubility and Density Isotherms – Potassium and Ammonium Nitrates in Isopropanol Solutions. *Ind. Eng. Chem.*, 1945, vol. 37, no. 12, pp. 1244–1248.
46. Varlamova T. M., Gerasimova G. V., Antonova E. V., Golubnicheva E. M. Solubility of potassium iodide in water–alcohol mixtures. *Khimicheskie nauki-2006: sb. nauch. tr.* [Chemical Sciences-2006: coll. of sci. papers]. Iss. 3. Saratov, Nauchnaya kniga Publ., 2006, pp. 32–35 (in Russian).

Cite this article as:

Cherkasov D. G., Il’in K. K. Data Approximation for Plotting the Binodal Curve on the Phase Diagrams of Some Ternary *Salt – Water – Isopropyl (n-Propyl) Alcohol Systems*. *Izv. Saratov Univ. (N. S.)*, Ser. Chemistry. Biology. Ecology, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 274–283 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-274-283>



УДК 547.828.2+547.853.3

2-амино-3-формилхромен-4-он как «соединение-платформа» в синтезе гибридных систем под действием N-нуклеофилов

А. Л. Иванова, И. В. Каневская, Д. Н. Ибрагимова, О. В. Федотова

Иванова Александра Леонидовна, аспирант кафедры органической и биоорганической химии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, aleksandraleonidovna@gmail.com

Каневская Ирина Владимировна, кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры органической и биоорганической химии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, irinastrashilina@mail.ru

Ибрагимова Диана Нуржановна, кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры органической и биоорганической химии Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, kumargalieva.diana@yandex.ru

Федотова Ольга Васильевна, доктор химических наук, профессор, директор Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, inchem@info.sgu.ru.

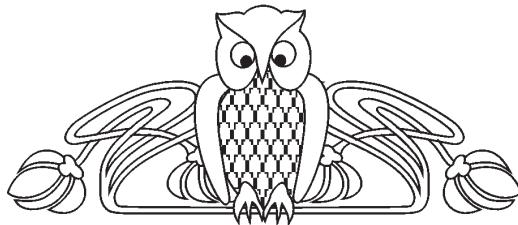
Показано, что 4Н-хроменоны, функционализированные альдегидной группой в положении С₃, способны образовывать гибридные системы, имеющие в своей структуре помимо хроменонового пиридинового, пиrimидинового циклы. Кислая среда способствует раскрытию γ-лактонного фрагмента. Показана возможность дезактивации альдегидной группы с последующим деформилированием.

Ключевые слова: 4Н-хроменоны, гибридные системы, γ-лактоны, 2-амино-4-оксо-4Н-хромен-3-карбальдегид, N-нуклеофилы.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-284-288>

Введение

Известно, что хроменоновый фрагмент является наиболее распространенным среди гетероциклических систем, представленных в растительном мире [1]. Так, он входит в состав высокоактивных природных веществ – флавоноидов, которым в последнее время уделяется пристальное внимание [2, 3]. Так, производные 4Н-хроменонов проявляют противоопухолевую [4], противовоспалительную [5] и противовирусную активность [6], имеют высокое средство к бензодиазепиновым рецепторам [7] и используются в качестве антиоксидантов [8]. Благодаря фотохимическим свойствам соединения, вклю-



чающие данный билдинг-блок, применяются в качестве флуоресцентных меток при биохимических экспериментах и в клинической медицине [9]. Хромен-4-оны с электроноакцепторными заместителями в третьем положении являются перспективными «соединениями-платформами» для синтеза различных, в том числе биологически активных гибридных гетероциклических соединений.

В настоящей работе рассмотрены синтетические возможности 2-амино-4-оксо-4Н-хромен-3-карбальдегида в реакциях с различными N-нуклеофилами.

Материалы и методы

Элементный анализ проводился на CHNS-анализаторе Elementar Vario Micro cube (Elementar Analysensysteme GmbH, Германия). Спектры ЯМР ¹Н (400 МГц) и ¹³С (100 МГц), а также гетероядерной корреляции ¹Н-¹³С HSQC и HMBC регистрировались на спектрометре Varian 400 (Varian, США) в ацетоне-*d*₆ и ДМСО-*d*₆, внутренний стандарт – тетраметилсилан. Контроль за ходом реакции осуществляли методом ТСХ на пластинах Alugram® Sil G UV254 (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Германия), элюент – этил-ацетат – гексан – хлороформ (2 : 2 : 1); проявитель – УФ-излучение (длина волны 254 нм).

(2-Гидроксифенил)(6-амино-2-меркапто-1,6-дигидроксипиридин-5-ил)метанон (3)

В круглодонную колбу, снаженную обратным холодильником, помещают 0.35 г (1.6 ммоль) 2-амино-4-оксо-4Н-хромен-3-карбальдегида **1** и 0.12 г (1.6 ммоль) тиомочевины **2**, растворяют в 10 мл ледяной уксусной кислоты, кипятят в течение 5 ч. По окончании реакции выпавшие кристаллы отделяют, промывают водой, сушат на воздухе и в эксикаторе под вакуумом над прокаленным сульфатом магния. Получают 0.13 г бесцветных кристаллов соединения **3** (выход 33.3%). Т.пл. 320–321° С. Спектр ЯМР ¹Н, (ацетон-*d*₆), δ, м.д.: 3.74 (с., 1Н, OH), 7.74 (д., 1Н, CH), 8.44



(с., 1H, NH), 9.44 (с., 1H, NH_{имин}), 8.84 (с., 2H, NH₂), 10.09 (с., 1H, NH), 10.19 (с., 1H, SH), 7.35–8.13 (м., 4H, Ar). Спектр ЯМР ¹³C, (ацетон-*d*₆), δ, м.д.: 118.2, 122.6, 121.8, 126.5, 135.9, 163.6 (C_{аром}), 121.5 (C₁), 150.5 (C₂), 158.9 (C₆), 191.2 (C=O), 209.3 (C₄). Найдено, %: C 50.59; H 3.45; N 16.99; S 12.97. C₁₁H₉N₃O₂S. Вычислено, %: C 50.59, H 3.45; N 17.06; S 11.81.

3a-Гидрокси-2-тиоксо-3,3a-дигидро-1H-8,10-диокса-1,3,9-три-азабензо[fg]пентацен-15(2H)-он (7)

Аналогично **3** с добавлением 0.15 г (1.6 ммоль) тиосемикарбазида **4** в течение 6 ч получают 0.34 г бледно-желтых кристаллов соединения **7** (выход 54.8%). Т.пл. 334° С. Спектр ЯМР ¹H, (ацетон-*d*₆), δ, м.д.: 2.48 (с., 1H, OH), 7.37–7.97 (м., 8H, Ar), 8.47 (с., 1H, NH), 8.90 (с., 1H, NH), 11.05 (с., 1H, SH). Спектр ЯМР ¹³C, (ацетон-*d*₆), δ, м.д.: 88.4 (C_{3a}), 100.2 (C_{15a}), 101.1 (C_{3c}), 120.0, 121.4, 124.8, 126.6, 127.6, 128.1, 128.6, 136.7 (C_{аром}), 120.3 (C_{14a}), 133.5 (C_{3b}), 148.1 (C_{7a}), 152.3 (C_{15b}), 156.0 (C_{10a}), 156.5 (C_{9a}), 167.5 (C_{8a}), 182.1 (C=O), 205.3 (C₂). Найдено, %: C 65.26; H 3.51; N 10.44; S 7.82. C₂₀H₁₁N₃O₄S. Вычислено, %: C 61.69; H 2.85; N 10.79; S 8.23.

Сульфат 5-амино-4-(((2-амино-4-оксо-4H-хромен-3-ил)(гидрокси)-метил)амино)-6-гидроксипиримидин-2-аммония (9)

Аналогично **3** при добавлении 0.4 г (1.6 ммоль) 2,4,5-триамино-6-гидроксипиримидинсульфата **8** в течение 8 ч получают 0.16 г бледно-желтых кристаллов соединения **9** (выход 24.3%). Т.пл. 342–343° С. Спектр ЯМР ¹H, (ацетон-*d*₆), δ, м.д.: 9.11 (с., 2H, NH₂), 9.57 (с., 2H, NH₂), 9.91 (с., 2H, NH₂), 10.05 (с., 1H, O=C-H), 13.57

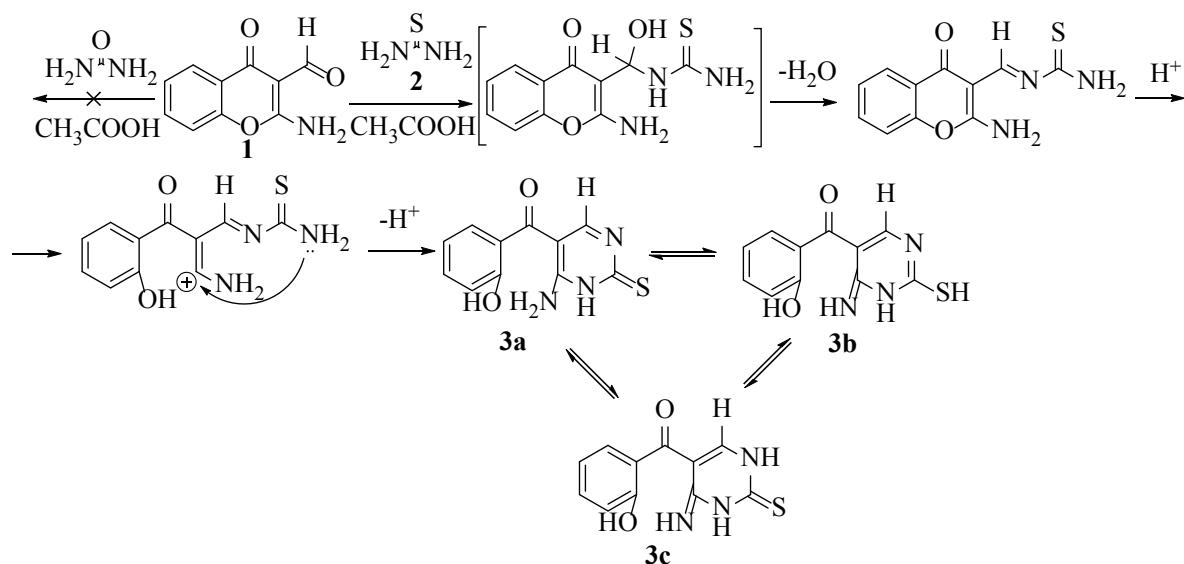
(с., 2H, H₂SO₄), 6.40–8.33 (м., 4H, Ar). Спектр ЯМР ¹H, (ацетон-*d*₆), δ, м.д.: 115.7, 119.7, 123.0, 129.9, 131.7, 156.5 (C_{аром}), 138.4 (C₅), 147.0 (C₂), 150.4 (C₄), 155.7 (C₃), 159.2 (C₆), 164.6 (C₄), 170.9 (C₂), 188.2 (C=O). Найдено, %: C 40.68; H 3.56; N 19.68; S 7.11. C₁₄H₁₃N₆O₃. Вычислено, %: C 40.98; H 3.44; 20.48; S 7.81.

Результаты и их обсуждение

Анализ литературы показал, что 2-амино-4-оксо-4H-хромен-3-карбальдегид **1** является перспективным «билдинг-блоком» в синтезе полигетероциклических систем. Однако реакции с полиазонуклеофилами представлены одним примером, не носящим систематического характера. Так, описано взаимодействие 2-амино-4-оксо-4H-хромен-3-карбальдегида **1** с гуанидином с образованием 5H-хромено[4,3-*d*]пиrimидин-5-ола, представленное через раскрытие лактонного кольца [10].

Не меньшей синтетический интерес представляют реакции с оксо- и тиоаналогами гуанидина – (тио)карбамидами, позволяющие вводить в структуру продуктов биогенные элементы – азот и серу, – приводя к высокоперспективным гибридным системам хроменопиримидинового типа. Перспектива получения подобных структур выразилась в исследовании нами реакций 2-амино-4-оксо-4H-хромен-3-карбальдегида **1** с мочевиной и тиомочевиной.

Выявлено, что в условиях кипения в ледяной уксусной кислоте взаимодействие 2-амино-4-оксо-4H-хромен-3-карбальдегида **1** с мочевиной не представляется возможным, что можно объяснить, вероятно, дезактивацией азакомпоненты в кислой среде.



Использование в рассматриваемой реакции тиомочевины приводит к (2-гидроксифенил)(6-имино-2-меркапто-1,6-дигидроксипириимидин-5-ил)метанону **3**. Замещенный иминопириимидинион **3** возникает вследствие нуклеофильного присоединения реагента к карбонильному атому углерода альдегидной функции с образованием имина, претерпевающего термическую дециклизацию хроменонового фрагмента и дальнейшую циклизацию в конечный продукт **3**, существующий, на основании данных ЯМР ^1H спектроскопии, в растворе ацетона $-d_6$ в трех таутомерных формах **3 a–c**.

Так, в ЯМР ^1H спектре (2-гидроксифенил)(6-имино-2-меркапто-1,6-дигидроксипириимидин-5-ил)метанона **3**, зарегистрированном в ацетоне- d_6 , отмечен синглет винильного протона при 7.74 м.д., синглет протона фенольной гидроксильной группы при 3.74 м.д. Последний позволяет предполагать дециклизацию 4*H*-хроменонового фрагмента. О возможности имин-аминной и тион-ентиольной таутомерии свидетельствует наличие ряда слабопольных сигналов, а именно синглетов протонов двух NH-тиоамидных групп при 8.44 м.д. и 10.09 м.д., синглетов иминной и первичной аминогрупп при 9.44 м.д. и 9.84 м.д. соответственно и синглета протона тиольной группы при 10.19 м.д., свидетельствующих о существовании трех таутомеров **3a**, **3b**, **3c**. Мультиплет четырех ароматических протонов отмечен в области 7.35–8.13 м.д.

Таким образом, выявлено, что реакция 2-амино-4-оксо-4*H*-хромен-3-карбальдегида **1**

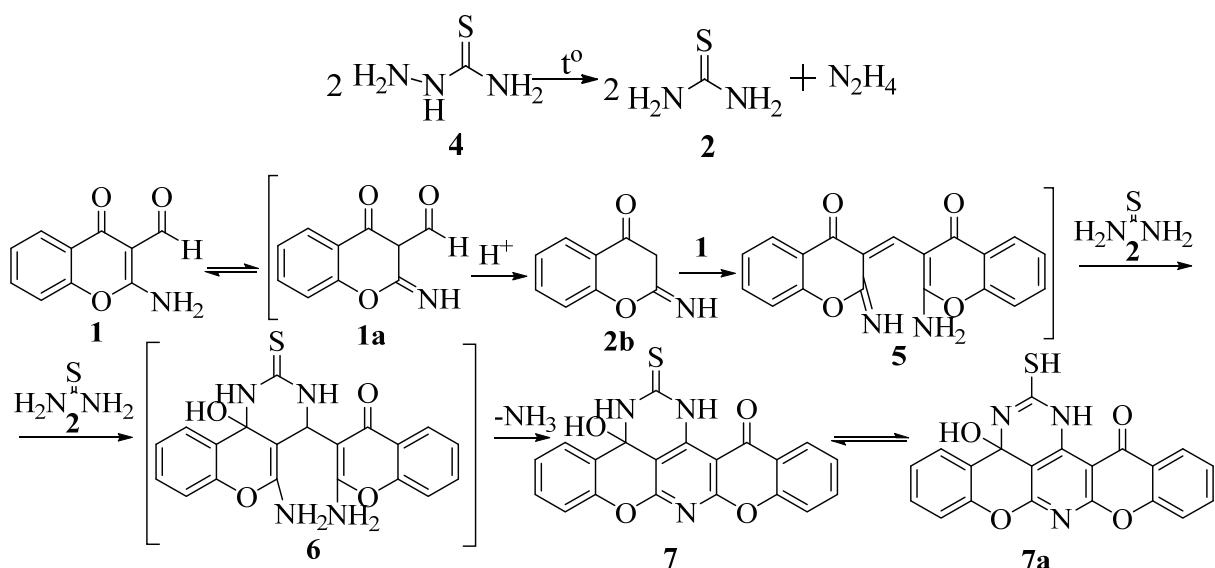
с тиокарбамидом может применяться в синтезе функционализированных замещенных пириимидинионов.

Имеются работы по исследованию поведения 2-амино-4-оксо-4*H*-хромен-3-карбальдегида **1** в присутствии (тио)семикарбазидов. Так, авторами [10] осуществлен синтез хромено[2,3-*c*]пиразол-4-(1*H*)-она при кипячении реагентов в этаноле.

Нами осуществлены реакции 2-амино-4-оксо-4*H*-хромен-3-карбальдегида **1** с семикарбазидом и его тиоаналогом в условиях кипячения в ледяной уксусной кислоте. Установлено, что в выбранных условиях 2-амино-4-оксо-4*H*-хромен-3-карбальдегид **1** в реакцию с семикарбазидом не вступает.

Превращение эквимолярных количеств 2-амино-4-оксо-4*H*-хромен-3-карбальдегида **1** и тиосемикарбазида в рассмотренных условиях позволяет получить сложнопостроенную гибридную систему За-гидрокси-2-тиоксо-3,За-дигидро-1*H*-8,10-диокса-1,3,9-триазабензо[fg]-пентацен-15(2*H*)-она **7**.

Вероятно, первоначально 2-амино-4-оксо-4*H*-хромен-3-карбальдегид **1** в таутомерной форме **1b** подвергается в среде ледяной уксусной кислоты деформилированию и вступает в реакцию Кнебенагеля со второй молекулой субстрата **1** до 2-амино-3-((2-амино-4-оксохромен-3-илиден)метил)-4*H*-хромен-4-она **5** [11]. Последний в дальнейшем претерпевает взаимодействие с тиомочевиной **2** – продуктом термического разложения тиосемикарбазида **4** [12] с замыканием в пиридиновый цикл, образуя конечный продукт **7**.



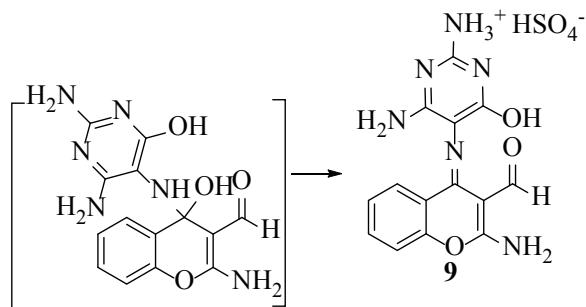
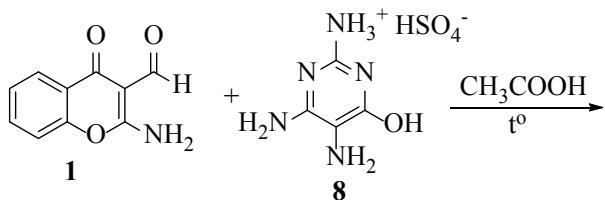


В ЯМР ^1H спектре 3-а-гидрокси-2-тиоксо-3,3-а-дигидро-1Н-8,10-диокса-1,3,9-триаза-бензо[fg]-пентацен-15(2Н)-она 7, зафиксированного в ацетоне- d_6 , присутствуют сигналы ароматических протонов в области 7.37–7.97 м.д., синглет протона гидроксильной группы при 2.48 м.д., два синглета протонов тиоамидных групп при 8.47 и 8.90 м.д., синглет протона тиольной группы при 11.05 м.д., присутствие которого объясняется существованием продукта 7 в виде равновесной смеси двух таутомерных форм 7 и 7а.

Таким образом, в ходе исследованных превращений получены гибридные системы, содержащие меркаптопиримидиновый фрагмент, сочетающийся с фармакофорными хромо-

мен(он)овыми и пиридиновыми гетероциклами.

Нами установлено, что введение в качестве полизануклеофила гетероароматического 2,5,6-триаминопиримидин-4-ола 8 в аналогичных условиях позволяет задействовать альтернативный реакционный центр молекулы субстрата 1 и провести реакцию как нуклеофильное замещение по кетонной функции с образованием гидросульфата 4-амино-5-((2-амино-3-формил-4Н-хромен-4-илиден)-амино)-6-гидроксипиримидин-2-аммония 9, сохраняющего в своей структуре высокоактивные альдегидную и аминогруппы. Также следует отметить ионный характер продукта 9, что, как известно, значительно повышает биодоступность вещества.



Строение соединения 9 подтверждено с привлечением ЯМР ^1H и HSQC спектроскопии. Так, в ЯМР ^1H спектре, зафиксированном в ацетоне- d_6 , наблюдаются сигналы ароматических протонов в диапазоне 6.40–8.33 м.д., три синглета протонов аминогрупп при 9.11, 9.57 и 9.91 м.д. Уширение наиболее слабопольного сигнала, наряду с появлением уширенного синглета одного протона при 13.56 м.д., соответствующего протону гидросульфат иона, подтверждает ионный характер образующегося продукта. Синглет протона альдегидной группы отмечен при 10.05 м.д., что подтверждается его корреляцией в HSQC спектре в виде характеристического кросс-пика 10.05/188.2 м.д., соответствующего протону формильной группы.

Таким образом, в зависимости от выбранного реагента 2-амино-4-оксо-4Н-хромен-3-карбальдегид 1 способен реагировать как по формильной группе в случае тиомочевины, по альдегидной и кетонной функциям в случае тиосемикарбазида и по кетонной группе в реакции с полизамещенным нуклеофильным реагентом 2,5,6-триаминопиримидин-4-олом. Отмечено раскрытие γ -лактонового фрагмента в кислой среде.

Список литературы

1. Miao H., Yang Z. Regiospecific carbonylative annulation of iodophenol acetates and acetylenes to construct the flavones by a new catalyst of palladium–thiourea–dppp complex // Organic Letters. 2000. Vol. 2, № 12. P. 1765–1768. DOI: 10.1021/ol000087t
2. Lyckander J. M. Lipophilic flavonoids from Orthosiphon spicatus as in-hibitors of 15-lipoxygenase // Acta Pharmaceutica Nordica. 1992. Vol. 4, № 3. P. 159–166.
3. Mallerud K. E. Inhibitors of 15-lipoxygenase from orange peel // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2000. Vol. 48, № 11. P. 5576–5580. DOI: 10.1021/jf000613v
4. Denis L., Morton M. S., Griffiths K. Diet and its preventive role in prostatic disease // European Urology. 1999. Vol. 35, № 5–6. P. 377–387.
5. Gabor M. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of flavonoids // Progress in Clinical and Biological Research. 1986. Vol. 213. P. 471.
6. Desideri N., Mastromarino P., Conti C. Synthesis and evaluation of antirhinovirus activity of 3-hydroxy and 3-methoxy 2-styrylchromones // Antiviral Chemistry and Chemotherapy. 2003. Vol. 14, № 4. P. 195–203.
7. Marder M. Detection of benzodiazepine receptor ligands in small libraries of flavone derivatives synthesized by solution phase combinatorial chemistry // Biochemical and Biophysical Research Communications. 1998. Vol. 249, № 2. P. 481–485. DOI: 10.1006/bbrc.1998.9146



8. Gomes A. Synthesis and antioxidant properties of new chromone derivatives // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2009. Vol. 17, № 20. P. 7218–7226. DOI: 10.1016/j.bmc.2009.08.056
9. Saloutin V. I. Novel fluorinated chromones // *Journal of Fluorine Chemistry*. 1993. Vol. 65, № 1–2. P. 37–41. DOI: 10.1016/S0022-1139(00)80470-4
10. Ibrahim M. A., El-Mahdy K. M. Synthesis and antimicrobial activity of some new heterocyclic Schiff bases derived from 2-amino-3-formylchromone // *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*. 2009. Vol. 184, № 11. P. 2945–2958. DOI: 10.1080/10426500802625594
11. Fitton A. O. Conversion of 3-formylchromones into pyrrole and thiophene derivatives // *Synthesis*. 1977. Vol. 1977, № 2. P. 133–135.
12. Achaiah G., Jayamma Y., Reddy V. M. Synthesis and biological evaluation of 2-[3-aryl-4 (3H)-quinazolinon-2yl] pyrrolino [5, 4-b] 2, 3-dihydro-4H-[1]-benzopyran-4-ones // *Ind. J. Heterocycl. Chem.* 1991. Vol. 1. P. 39–42.

Образец для цитирования:

Иванова А. Л., Каневская И. В., Ибрагимова Д. Н., Федотова О. В. 2-амино-3-формилхромен-4-он как «соединение-платформа» в синтезе гибридных систем под действием N-нуклеофилов // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 284–288. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-284-288>

2-amino-3-formilchromen-4-one as “Connection-platform” in the Synthesis of Hybrid Systems under the Action of N-Nucleophiles

A. L. Ivanova, I. V. Kanevskaya, D. N. Ibragimova, O. V. Fedotova

Aleksandra L. Ivanova, <https://orcid.org/0000-0003-1053-8499>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, aleksandraleonodovna@gmail.ru

Irina V. Kanevskaya, <https://orcid.org/0000-0002-3981-8032>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, vasilkovano@mail.ru

Diana K. Ibragimova, <https://orcid.org/0000-0001-8196-7587>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, vasilkovano@mail.ru

Ol'ga V. Fedotova, <https://orcid.org/0000-0002-3657-3156>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, vasilkovano@mail.ru, inchem@info.sgu.ru

It has been shown that 4H-chromenone functionalized aldehyde group at position C₃ are capable to form hybrid systems which are in addition to their availability chromenone pyridine, pyrimidine rings. Acidic environment gives the opening of the γ -lactone fragment. The possibility of deactivation of the aldehyde group with subsequent deformation has been shown.

Keywords: 4H-chromenones, hybrid systems, γ -lactones, 2-amino-4-oxo-4H-chromen-3-carbaldehyde, N-nucleophiles.

References

1. Miao H., Yang Z. Regiospecific carbonylative annulation of iodophenol acetates and acetylenes to construct the flavones by a new catalyst of palladium-thiourea-dppp complex. *Organic Letters*, 2000, vol. 2, no. 12, pp. 1765–1768. DOI: 10.1021/o1000087t
2. Lyckander I. M. Lipophilic flavonoids from Orthosiphon spicatus as inhibitors of 15-lipoxygenase. *Acta Pharmaceutica Nordica*, 1992, vol. 4, no. 3, pp. 159–166.
3. Malterud K. E. Inhibitors of 15-lipoxygenase from orange peel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, vol. 48, no. 11, pp. 5576–5580. DOI: 10.1021/jf000613v
4. Denis L., Morton M. S., Griffiths K. Diet and its preventive role in prostatic disease. *European Urology*, 1999, vol. 35, no. 5–6, pp. 377–387.
5. Gabor M. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of flavonoids. *Progress in Clinical and Biological Research*, 1986, vol. 213, pp. 471.
6. Desideri N., Mastromarino P., Conti C. Synthesis and evaluation of antirhinovirus activity of 3-hydroxy and 3-methoxy 2-styrylchromones. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 2003, vol. 14, no. 4, pp. 195–203.
7. Marder M. Detection of benzodiazepine receptor ligands in small libraries of flavone derivatives synthesized by solution phase combinatorial chemistry. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1998, vol. 249, no. 2, pp. 481–485. DOI: 10.1006/bbrc.1998.9146
8. Gomes A. Synthesis and antioxidant properties of new chromone derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2009, vol. 17, no. 20, pp. 7218–7226. DOI: 10.1016/j.bmc.2009.08.056
9. Saloutin V. I. Novel fluorinated chromones. *Journal of Fluorine Chemistry*, 1993, vol. 65, no. 1–2, pp. 37–41. DOI: 10.1016/S0022-1139(00)80470-4
10. Ibrahim M. A., El-Mahdy K. M. Synthesis and antimicrobial activity of some new heterocyclic Schiff bases derived from 2-amino-3-formylchromone. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*, 2009, vol. 184, no. 11, pp. 2945–2958. DOI: 10.1080/10426500802625594
11. Fitton A. O. Conversion of 3-formylchromones into pyrrole and thiophene derivatives. *Synthesis*, 1977, vol. 1977, no. 2, pp. 133–135.
12. Achaiah G., Jayamma Y., Reddy V. M. Synthesis and biological evaluation of 2-[3-aryl-4 (3H)-quinazolinon-2yl] pyrrolino [5, 4-b] 2, 3-dihydro-4H-[1]-benzopyran-4-ones. *Ind. J. Heterocycl. Chem.*, 1991, vol. 1, pp. 39–42.

Cite this article as:

Ivanova A. L., Kanevskaya I. V., Ibragimova D. N., Fedotova O. V. 2-amino-3-formilchromen-4-one as “Connection-platform” in the Synthesis of Hybrid Systems under the Action of N-nucleophiles. *Izv. Saratov Univ. (N. S.)*, Ser. Chemistry. Biology. Ecology, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 284–288 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-284-288>

БИОЛОГИЯ

УДК 581.6:601

Индукция прямого органогенеза в культуре зрелых зародышей кукурузы

Б. М. Х. Хумуд, О. И. Юдакова

Хумуд Бутхайна Мухаммед Хумуд, аспирант кафедры генетики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, bobogold18@gmail.com

Юдакова Ольга Ивановна, доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой генетики, декан биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, yudakova@info.sgu.ru

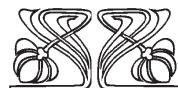
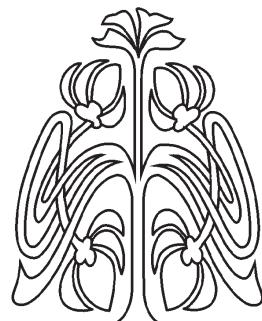
Регенерация растений в культуре *in vitro* через прямой органогенез позволяет избежать сомаклональной изменчивости. Целью исследования была индукция прямого органогенеза в культуре зрелых зародышей линий кукурузы: ATTМ (bm, wx, y), ATTМ (bm, y), ATTМ (bm, g, В-тип ЦМС), AT-3 (4n). Данные линии характеризуются наследственной предрасположенностью к партеногенезу. В качестве первичного экспланта использовали изолированные зрелые зародыши, выделенные из стерильных зерновок. Для инициации стерильной культуры оптимальной оказалась среда Мурасиге – Скуга (MS) с добавлением витаминов по прописи среды, 20 г/л сахарозы, 7 г/л агара (Rapgeac) без гормонов. Через 7 сут от начала культивирования проростки срезали и переносили на среду MS с добавлением 0,5 и 2,0 мг/л БАП (6-бензиламинопурин). Каллус не формировался. В зоне нижних узлов проростков развивались пазушные почки, которые затем прорастали в боковые побеги. Время заложения пазушных почек, их количество и длина пазушных побегов зависели от концентрации БАП в среде. Полученные результаты показали, что для индукции прямого органогенеза у изученных линий эффективнее использовать среду MS с добавлением 2,0 мг/л БАП. На данной среде пазушные почки в количестве от 3 до 10 закладывались на 1–2-й неделе культивирования. Через 5 недель культивирования регенерант представлял собой пучок из 5–10 побегов длиной 10–15 мм. Для удлинения микропобегов их, не разделяя, переносили на среду MS без гормонов или MS с 0,2 мг/л БАП. На среде с пониженным содержанием БАП происходило удлинение побегов, что позволяло разделять их и переводить на среды с ауксинами для дальнейшего укоренения.

Ключевые слова: клonalное микроразмножение, культивирование *in vitro*, культура зрелых зародышей, прямой органогенез, кукуруза, *Zea mays*.

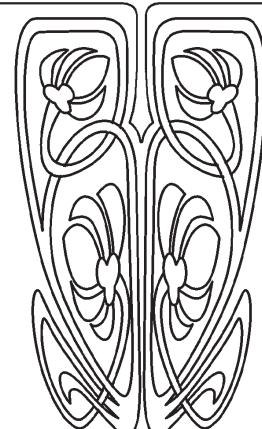
DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-289-294>

Кукуруза (*Zea mays* L.) – важная продовольственная, кормовая и техническая культура. Для обеспечения разных направлений ее практического использования и расширяющегося производства требуется создание сортов с различным набором полезных признаков и адаптированных к разным эколого-климатическим условиям. Особенно актуальным является выведение новых высокопродуктивных и экологически пластичных сортов и линий для выращивания в умеренных широтах, так как их генетическое разнообразие ограничено.

В селекции кукурузы широко используются такие современные методы, как удвоение гаплоидов (HD-технологии), трансгенез, культура тканей и органов *in vitro*. Регенерация растений *in vitro* может происходить как посредством прямого органогенеза за счет акти-



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





вации существующих меристем экспланта, так и через каллусные культуры с последующим развитием эмбриоидов и побегов *de novo*. В настоящее время накоплен значительный опыт регенерации растений кукурузы посредством соматического эмбриогенеза при использовании в качестве эксплантов незрелых и зрелых зародышей [1–3], неоплодотворенных завязей [4], оплодотворенных семязачатков [5], пыльников [6], сегментов проростков [7], листьев [8] и др. Регенерация через каллусные культуры часто сопровождается сомаклональной изменчивостью. В зависимости от целей эксперимента она способна оказать на его результаты как положительное, так и отрицательное влияние. Ее можно использовать для увеличения генетического разнообразия исходного материала, но она будет крайне нежелательна при клонировании уникальных генотипов и проведении генноинженерных исследований. Для снижения риска сомаклональной изменчивости необходима разработка технологий регенерации растений через прямой органогенез, которые исключают этап образования каллуса. В отличие от многочисленных исследований по соматическому эмбриогенезу у кукурузы работы по индукции прямого органогенеза выполнены лишь для единичных генотипов [9–13]. Способность к регенерации растений в условиях *in vitro*, как известно, во многом определяется его генотипом. Считают, что у кукурузы только небольшое количество генотипов обладает регенерационной способностью [14]. В связи с этим актуальными являются поиск новых «отзывчивых» к культуре *in vitro* генотипов кукурузы и индукция у них прямого органогенеза.

Целью нашего исследования была индукция прямого органогенеза в культуре зрелых зародышей партеногенетических линий кукурузы, созданных в Саратовском госуниверситете.

Материалы и методы

Материалом исследования послужили линии кукурузы ATTM (bm, wx, y), ATTM (bm, y), ATTM (bm, g, B-тип ЦМС), AT-3 (4n), которые характеризуются склонностью к наследуемому партеногенезу и регулярно дают в потомстве матроклиниальные гаплоиды [15, 16].

В качестве первичного экспланта использовали зрелые зародыши. Зерновки замачивали в дистиллированной воде на 24 ч. Удаляли семенную оболочку в области зародыши и стерилизовали 70% этиловым спиртом и 0,1% ртутьсодержащим раствором в течение 5 мин. Отмывали тремя порциями стерильной дистиллированной воды. В условиях ламинар-бокса

из зерновок вычленяли зародыши и пассировали их в чашки Петри на искусственную питательную среду. Для инициации стерильной культуры были протестированы следующие среды: 1) голодный агар; 2) Мурасиге – Скуга (MS) [17] с добавлением витаминов по прописи среды, 20 мг/л сахара, 7 г/л агара (Panreac), без добавления гормонов; 3) MS с добавлением 0,5 мг/л 6-бензиламинопурин (БАП). Для собственно размножения использовали среды MS с добавлением БАП в концентрации 0,5 и 2,0 мг/л. Среду автоклавировали 20 мин при 120° С. Этапы инициации стерильной культуры проводили в чашках Петри, этапы микроразмножения – в стеклянных колбах объемом 200 мл. В чашки Петри и колбы добавляли по 25 мл питательной среды. Культуры выращивали в климатокамере Sanyo MLR-352 при температуре 24° С при 16-часовом фотопериоде.

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием программ Microsoft Office Excel 2010.

Результаты и их обсуждение

На всех апробированных вариантах питательных сред изолированные зародыши прорастали с частотой около 90%. Однако на голодном агаре у проростков наблюдалась витрификация тканей, а на среде с добавлением БАП – такие морфозы, как недоразвитие колеоптиле, закручивание листьев и изменение их формы. Нормальные жизнеспособные проростки были получены только на среде MS без гормонов.

Через 7 сут от начала культивирования проростки переносили на среды MS с добавлением 6-бензиламинопурина (БАП) в концентрации 0,5 и 2,0 мг/л. Приживаемость эксплантов варьировалась от 33% у линии AT-3 (4n) до 92% у линии ATTM (bm, wx, y) (рис. 1). Выявлено влияние генотипа на приживаемость эксплантов.

На среде для размножения, дополненной 0,5 мг/л БАП, у проростков всех изученных линий в зоне среза каллус не формировался (рис. 2). Проросток рос и через 3–4 недели культивирования состоял из нескольких укороченных междоузлий и 4–5 листьев. В зоне узла, ближайшего к поверхности питательной среды, в пазухе листа закладывались 1–3 пазушные почки, которые можно было обнаружить только после удаления листьев при анализе проростков с помощью бинокулярного микроскопа. Через 7–8 недель пазушные почки прорастали в короткие побеги длиной 2–3 мм (см. рис. 2, a). Как правило, они были закрыты влагалищем листа, поэтому экспланкт визуально выглядел как один первичный побег.

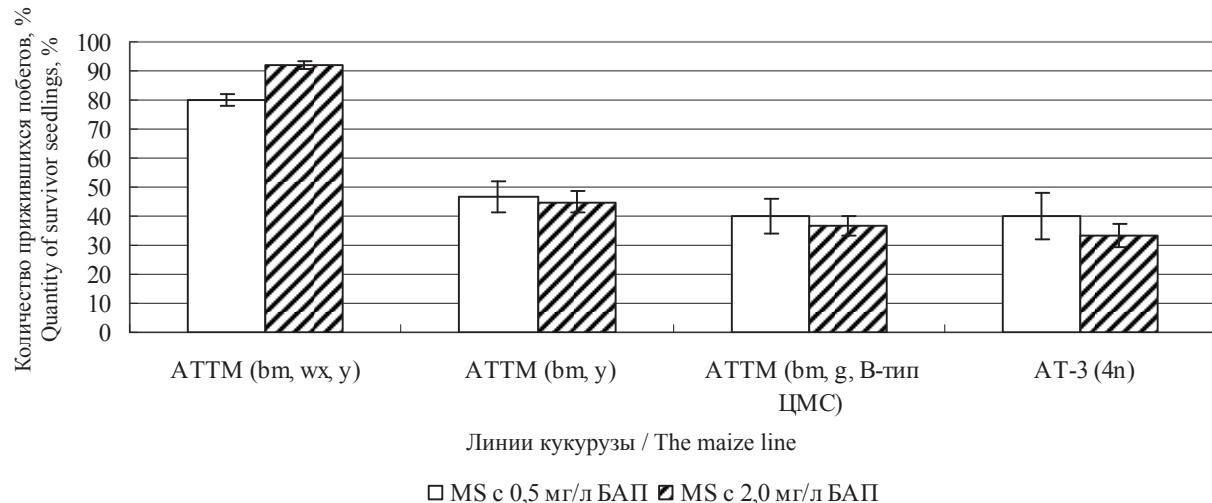


Рис. 1. Частота прижившихся проростков линий кукурузы на среде для размножения MS, дополненной 0,5 и 2,0 мг/л БАП
Fig. 1. The frequency of survivors seedlings of maize lines on the MS medium, supplemented with 0,5 and 2,0 mg/l BAP

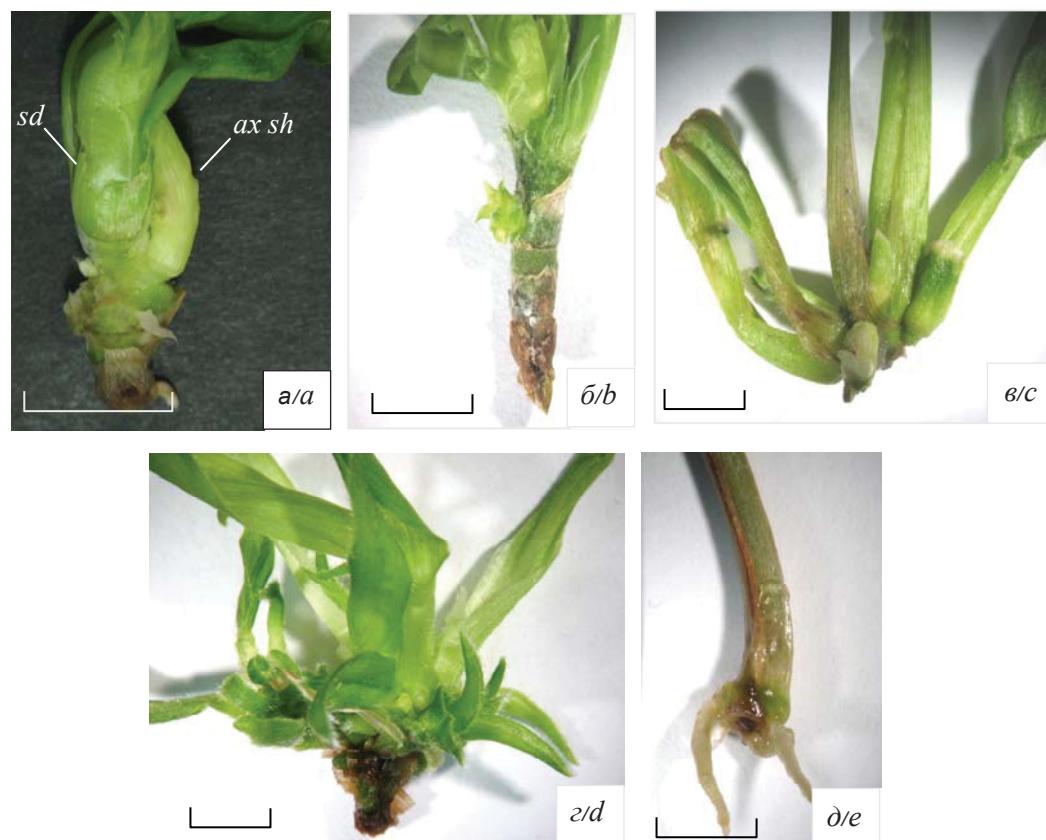


Рис. 2. Проростки кукурузы *in vitro*: *а* – проросток (*sd*) с развившимся пазушным побегом (*ax sh*) на среде MS с 0,5 мг/л БАП через 7 недель культивирования; *б* – проросток с пазушными побегами на среде MS с 2,0 мг/л БАП через 4 недели культивирования; *в, г* – регенерант с многочисленными пазушными побегами на среде MS с 2,0 мг/л БАП через 5 недель культивирования; *д* – побег со спонтанно развивающимися корнями на среде MS, дополненной 0,2 мг/л БАП, через 15 сут культивирования. Масштабная линейка: 5 мм
Fig. 2. Maize seedlings *in vitro*: *a* – seedling (*sd*) with developed axillary shoot (*ax sh*) on MS medium, supplemented with 0,5 mg/l BAP after 7 weeks of cultivation; *b* – seedling with axillary shoots on the MS medium, supplemented with 2,0 mg/l BAP after 4 weeks of cultivation; *c, d* – regenerant with numerous axillary shoots on the MS medium, supplemented with 2,0 mg/l BAP after 5 weeks of cultivation; *e* – seedling with spontaneously developed roots on MS medium, supplemented with 0,2 mg/l BAP after 15 days of cultivation. Scale bar: 5 mm

На среде с 2,0 мг/л БАП процесс образования пазушных побегов ускорялся. Почки формировались уже на первой и второй неделе культивирования, а пазушные побеги – через 3–4 недели культивирования (см. рис. 2, б). Их количество увеличивалось до 7–10. При этом пазушные почки развивались не только в зоне ближайшего к поверхности среды узла, но и на

вышерасположенных узлах. Через 5 недель регенерант представлял собой пучок из укороченных побегов (см. рис. 2, в, г). Длина пазушных побегов достигала 10–15 мм. Результаты анализа показали отсутствие влияния генотипа линий на показатель «количество пазушных побегов» и зависимость этого показателя от концентрации БАП в среде для размножения (рис. 3).

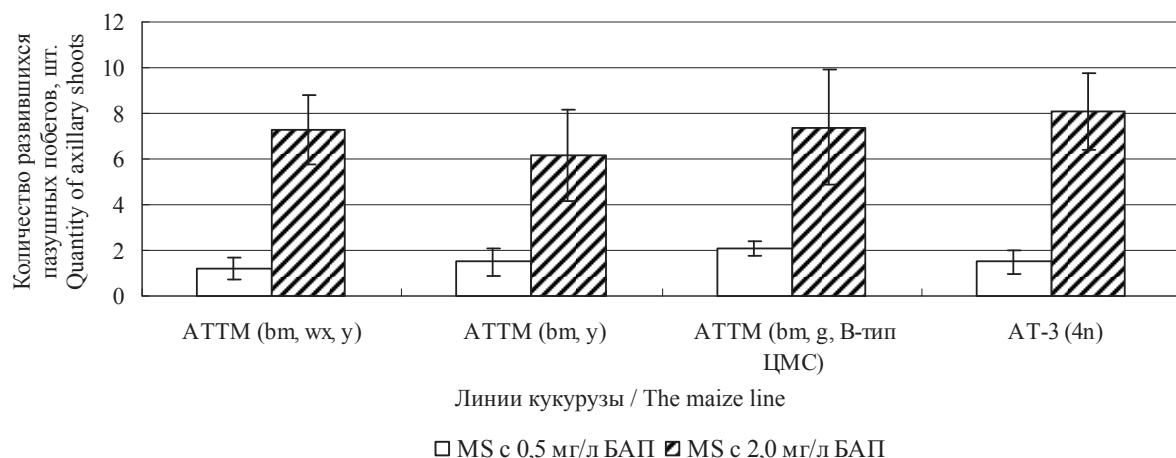


Рис. 3. Количество развившихся побегов на среде для размножения MS, дополненной 0,5 и 2,0 мг/л БАП
Fig. 3. The number of developed shoots on the MS medium, supplemented with 0,5 and 2,0 mg/l BAP

Для удлинения развивающихся боковых микропобегов их, не разделяя, переносили на среду MS без гормонов или MS с 0,2 мг/л БАП. На безгормональной среде побеги не удлинялись и желтели, на среде с пониженным содержанием БАП происходило удлинение побегов, что позволяло разделять их и переводить на среды с ауксинами для дальнейшего укоренения. Следует отметить, что на среде с пониженным содержанием БАП у некоторых побегов спонтанно развивались корни (см. рис. 2, д).

Таким образом, нами была успешно проведена индукция прямого органогенеза для пяти генотипов кукурузы, подобраны оптимальные среды для инициации стерильной культуры и собственно микроразмножения; выявлено влияние генотипа на приживаемость побегов изученных линий в культуре *in vitro*, влияние концентрации БАП в среде для размножения на количество пазушных побегов.

Полученные результаты открывают перспективы для использования разработанной технологии в генно-инженерных исследованиях с изученными линиями.

Благодарности

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Минобрнауки России в рам-

ках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности по заданию № 6.8789.2017/БЧ.

Список литературы

1. Huang X. Q., Wei Z. M. High-frequency plant regeneration through callus initiation from mature embryos of maize (*Zea mays* L.) // Plant Cell Rep. 2004. № 22. P. 793–800.
2. Joshi J. B., Yathish K. R., Amalraj J. J., Kumar K. K., Kokiladevi E., Arul L., Gnanam R., Balasubramanian P., Sudhakar D. A high-throughput regeneration protocol for recalcitrant tropical Indian maize (*Zea mays* L.) inbreds // Maydica Electronic Publication. 2014. Vol. 59. P. 211–216.
3. Rakshit S., Rashid Z., Sekhar J. C., Fatma T., Dass S. Callus induction and whole plant regeneration in elite Indian maize (*Zea mays* L.) inbreds // Plant Cell Tiss. Org. Cult. 2010. Vol. 100, № 1. P. 31–37.
4. Алаторцева Т. А., Тырнов В. С. Гормононезависимое проявление эмбриогенеза *in vitro* у партеногенетической линии кукурузы // Бюл. Бот. сада Сарат. гос. ун-та. 2003. № 2. С. 207–211.
5. Tang F., Tao Y., Zhao T., Wang G. *In vitro* production of haploid and doubled haploid plants from pollinated ovaries of maize (*Zea mays*) // Plant Cell Tiss. Org. Cult. 2006. Vol. 84. P. 233–237.
6. Obert B., Barnabas B. Colchicine induced embryogenesis in maize // Plant Cell Tiss. Org. Cult. 2004. Vol. 77. P. 283–285.

7. Santos M. A., Torne J. M., Blanco J. L. Methods of obtaining maize totipotent tissue. I. Seedling segments culture // *Plant Sci. Lett.* 1984. Vol. 33. P. 309–315.
8. Ahmadabadi M., Ruf S., Bock R. A leaf-based regeneration and transformation system for maize (*Zea mays* L.) // *Transgenic Res.* 2007. Vol. 16. P. 437–448.
9. Mushke R., Yarra R., Bulle M. Efficient *in vitro* direct shoot organogenesis from seedling derived split node explants of maize (*Zea mays* L.) // *J. of Genetic Engineering and Biotechnology*. 2016. Vol. 14. P. 49–53.
10. Ahmad M. Z., Hussain I., Ahmed S., Roomi S. Direct *in vitro* multiple shoot regeneration in maize (*Zea mays*) inbred lines // *J. Innov. Bio-Res.* 2017. Vol. 1, № 1. P. 24–29.
11. Ovchinnikova V. N., Sotchenko V. S., Sotchenko Y. V., Varlamova N. V., Radionova M. A., Kharchenko P. N. Susceptibility of maize mesocotyl culture to agrobacterium transformation and its *in vitro* regeneration // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2018. Vol. 54, № 8. P. 808–815.
12. Хумуд Б. М. Х., Ананасова Н. В., Юдакова О. И. Введение в культуру *in vitro* партеногенетических линий кукурузы // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2016. Т. 18, № 2-2. С. 341–344.
13. Olawuyi O. J., Dalamu O., Olowe O. M. *In vitro* regeneration and proliferation of maize (*Zea mays* L.) genotypes through direct organogenesis // *J. of Natural Sci. Res.* 2019. Vol. 9, № 6. P. 65–73.
14. Armstrong C., Green C. E. Establishment and maintenance of friable, embryogenic maize callus and involvement of L-proline // *Planta*. 1985. Vol. 164, № 2. P. 207–214.
15. Гуторова О. В., Ананасова Н. В., Юдакова О. И. Создание генетически маркированных линий кукурузы с наследуемым и индуцированным типами партеногенеза // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2016. Т. 18, № 2-2. С. 341–344.
16. Ананасова Н. В., Гуторова О. В., Юдакова О. И., Смолькина Ю. В. Особенности строения и развития женских генеративных структур у линий кукурузы с наследуемым и индуцированным типами партеногенеза // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2017. Т. 19, № 2-2. С. 216–219.
17. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. P. 473–497.

Образец для цитирования:

Хумуд Б. М. Х., Юдакова О. И. Индукция прямого органогенеза в культуре зрелых зародышей кукурузы // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 289–294. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-289-294>

Induction of Direct Organogenesis in the Culture of Mature Embryo in Maize

B. M. H. Humood, O. I. Yudakova

Buthaina M. H. Humood, <https://orcid.org/0000-0001-9509-8562>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, bobogold18@gmail.com

Olga I. Yudakova, <https://orcid.org/0000-0003-1391-6803>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, yudakova@info.sgu.ru

Regeneration of plants *in vitro* through direct organogenesis allows the avoidance of somaclonal variation. The aim of our study was the induction of direct organogenesis in the culture of mature embryo in maize lines created at Saratov State University: ATTM (bm, wx, y), ATTM (bm, y), ATTM (bm, g, V-type CMS), AT-3 (4n). These lines are characterized by genetic predisposition to parthenogenesis. The mature embryos isolated from sterile grains were used as a primary explant. Murashige-Skoogha (MS) supplemented with vitamins according to the recipe, 20 g/l sucrose, 7 g/l agar (Panreac) without hormones was the most optimal for the initiation of a sterile culture. After 7 days of cultivation, the seedlings were cut and transferred to the MS medium, supplemented with 0,5 and 2,0 mg/l BAP (6-benzylaminopurine). Callus was not forming. Axillary buds and then axillary shoots were developed in the area of the seedlings' nodes. The timing of the axillary bud development, the number of buds and the length of the axillary shoots depended on the concentration of BAP in the

medium. The results showed that MS medium supplemented with 2,0 mg/l BAP is more effective for the induction of direct organogenesis in the studied lines. Axillary buds (3-10) were laid in the 1–2nd week of cultivation on this medium. After 5 weeks of cultivation, the regenerant was a bundle of 5–10 shoots 10–15 mm long. Developed shoots were transferred, without dividing, on the MS medium without hormones or with 0,2 mg/l BAP for elongation. The elongation of the shoots occurred on the medium with a low concentration of BAP. This made it possible to separate the shoots and translate them on the medium with auxins for rooting.

Keywords: clonal micropropagation, *in vitro* cultivation, mature embryo culture, direct organogenesis, maize, *Zea mays*.

Acknowledgments: The work was carried out with the partial financial support of the Ministry of Education and Science of Russia within the framework of the basic part of the state task in the sphere of scientific activity on the assignment No. 6.8798.2017/BCh.

References

1. Huang X. Q., Wei Z. M. High-frequency plant regeneration through callus initiation from mature embryos of maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Rep.*, 2004, no. 22, pp. 793–800.
2. Joshi J. B., Yathish K. R., Amalraj J. J., Kumar K. K., Kokiladevi E., Arul L., Gnanam R., Balasubramanian P.,

- Sudhakar D. A high-throughput regeneration protocol for recalcitrant tropical Indian maize (*Zea mays* L.) inbreds. *Maydica electronic publication*, 2014, vol. 59, pp. 211–216.
3. Rakshit S., Rashid Z., Sekhar J. C., Fatma T., Dass S. Callus induction and whole plant regeneration in elite Indian maize (*Zea mays* L.) inbreds. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 2010, vol. 100, no. 1, pp. 31–37.
4. Alatortseva T. A., Tyrnov V. S. Hormone-independent manifestation of in vitro embryogenesis in parthenogenetic maize lines. *Bulletin of the Botanical Garden of Saratov State University*, 2003, no. 2, pp. 207–211 (in Russian).
5. Tang F., Tao Y., Zhao T., Wang G. In vitro production of haploid and doubled haploid plants from pollinated ovaries of maize (*Zea mays*). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 2006, vol. 84, pp. 233–237.
6. Obert B., Barnabas B. Colchicine induced embryogenesis in maize. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 2004, vol. 77, pp. 283–285.
7. Santos M. A., Torne J. M., Blanco J. L. Methods of obtaining maize totipotent tissue. I. Seedling segments culture. *Plant Sci Lett.*, 1984, vol. 33, pp. 309–315.
8. Ahmadabadi M., Ruf S., Bock R. A leaf-based regeneration and transformation system for maize (*Zea mays* L.). *Transgenic Res.*, 2007, vol. 16, pp. 437–448.
9. Mushke R., Yarra R., Bulle M. Efficient in vitro direct shoot organogenesis from seedling derived split node explants of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2016, vol. 14, pp. 49–53.
10. Ahmad M. Z., Hussain I., Ahmed S., Roomi S. Direct in vitro multiple shoot regeneration in maize (*Zea mays*) inbred lines. *J. Innov Bio-Res.*, 2017, vol. 1, no. 1, pp. 24–29.
11. Ovchinnikova V. N., Sotchenko V. S., Sotchenko Y. V., Varlamova N. V., Radionova M. A., Kharchenko P. N. Susceptibility of maize mesocotyl culture to agrobacterium transformation and its in vitro regeneration. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2018, vol. 54, no. 8, pp. 808–815.
12. Humood B. M. H., Apanasova N. V., Yudakova O. I. Introduction to Culture in vitro of Corn Parthenogenetic Lines. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 3, pp. 320–324 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-320-324
13. Olawuyi O. J., Dalamu O., Olowe O. M. In vitro regeneration and proliferation of maize (*Zea mays* L.) genotypes through direct organogenesis. *Journal of Natural Sciences Research*, 2019, vol. 9, no. 6, pp. 65–73.
14. Armstrong C., Green C. E. Establishment and maintenance of frible, embryogenic maize callus and involvement of L-proline. *Planta*, 1985, vol. 164, no. 2, pp. 207–214.
15. Gutorova O. V., Apanasova N. V., Yudakova O. I. Creation of genetically marked maize lines with inherited and induced types of parthenogenesis. *Izv. Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2016, vol. 18, no. 2-2, pp. 341–344 (in Russian).
16. Apanasova N. V., Gutorova O. V., Yudakova O. I., Smolkina Yu. V. Features of the structure and development of female generative structures in maize lines with inherited and induced types of parthenogenesis. *Izv. Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*, 2017, vol. 19, no. 2-2, pp. 216–219 (in Russian).
17. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 1962, vol. 15, pp. 473–497.

Cite this article as:

Humood B. M. H., Yudakova O. I. Induction of Direct Organogenesis in the Culture of Mature Embryo in Maize. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 289–294 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-289-294>

УДК 582.675.1

Виталитетная структура и онтогенетическая стратегия *Delphinium litwinowii* (Ranunculaceae)

А. В. Богослов, А. С. Каин, И. В. Шилова,
Т. А. Крицкая, А. С. Пархоменко, Л. В. Гребенюк

Богослов Артем Валерьевич, аспирант биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, dandelioncave@mail.ru

Каин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, kashinas2@yandex.ru

Шилова Ирина Васильевна, кандидат биологических наук, доцент, ведущий биолог УНЦ «Ботанический сад», Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, schiva1952@yandex.ru

Крицкая Татьяна Алексеевна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии и цитогенетики УНЦ «Ботанический сад», Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, kriczkaya.tatyana@mail.ru

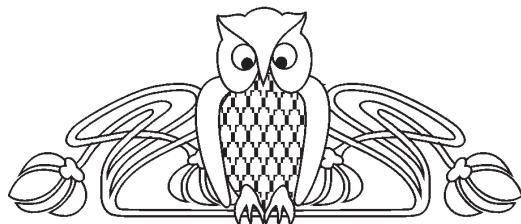
Пархоменко Алена Сергеевна, заведующий отделом биологии и экологии растений УНЦ «Ботанический сад», Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, parkhomenko_as@mail.ru

Гребенюк Людмила Владимировна, кандидат геолого-минералогических наук, доцент кафедры полимеров на базе ООО «АКРИПОЛ» Института химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, grebenuk2@yandex.ru

В статье приводятся результаты изучения виталитетной структуры четырех ценопопуляций *Delphinium litwinowii* Sambuk из Пензенской, Тамбовской и Воронежской областей в период с 2017 по 2018 г. Наибольшей жизненностью отличались более северные пензенские ценопопуляции в 2017 г., а наименьшей – расположенная южнее, воронежская ценопопуляция из окрестностей с. Владимировка. Большинство ценопопуляций за период наблюдений оценены как процветающие; ценопопуляция из окрестностей с. Владимировка определена как депрессивная. Индекс размерной пластичности *D. litwinowii* достаточно невысок – 1,42. У *D. litwinowii* при нарастании стресса происходит сначала ослабление, а затем усиление взаимообусловленности в развитии структур растения. Иными словами, наблюдается чередование стрессовой и защитной компонент в онтогенетической стратегии.

Ключевые слова: *Delphinium litwinowii*, редкий вид, морфометрия, корреляция, виталитет.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-295-304>



Введение

Виталитет – морфоструктурное выражение жизненного состояния растений, ассоциирующееся с вегетативной массой и размером и являющееся важнейшим адаптивным механизмом, работающим на популяционном уровне [1, 2]. В основе виталитетного анализа прежде всего лежит изучение параметров морфологической структуры особей исследуемых ценопопуляций (ЦП). Кроме того, исследование виталитета ЦП крайне важно с точки зрения определения жизненной стратегии вида в целом. Не вызывает сомнения важность изучения подобных вопросов в ЦП редких видов растений, каковым является представитель семейства лютиковые (Ranunculaceae) – живокость Литвинова (*Delphinium litwinowii* Sambuk).

Живокость Литвинова – многолетнее короткокорневищное травянистое растение высотой 60–150 см, эндемик умеренной зоны Восточной Европы. Ареал вида охватывает территорию от бассейна Оки до Полтавской, Воронежской и Саратовской областей на юге, на востоке вид доходит до Южного Урала. Встречается во всех областях Центрального Черноземья [3–6]. Вид занесен в Красную книгу Воронежской области с категорией 2 [7]. В Красные книги Пензенской [8] и Тамбовской [9] областей занесен близкий вид живокость клиновидная (*Delphinium cuneatum* Stev. ex DC.), который нередко понимается широко и объединяется с *D. litwinowii* [10, 5].

Целью нашего исследования было определение виталитетной структуры четырех ЦП *D. litwinowii* и его онтогенетической стратегии.

Материалы и методы

Было изучено четыре ЦП *D. litwinowii* (рис. 1). В Пензенской области в 2017–2018 гг. нами изучены две ЦП *D. litwinowii* на территории заповедника «Приволжская лесостепь». Первая ЦП (*Ost*) находилась в Колышлейском районе, в защитной зоне участка «Островцовская лесостепь», вторая ЦП (*Ppr*) – в Пензенском районе на краю участка «Попереченская степь». Третья ЦП (*Vla*) изучена в 2018 г. в Острогожском районе Воронежской области на территории памятника

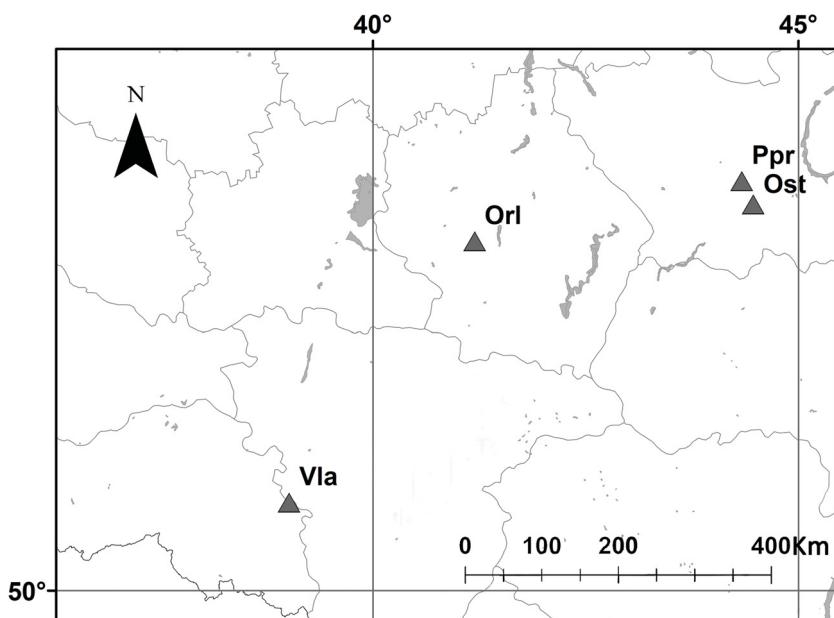


Рис. 1. Географическое расположение исследованных ценопопуляций *Delphinium litwinowii*

Fig. 1. The geographical location of the studied *Delphinium litwinowii* coenopopulations

природы «Степные склоны у с. Владимировка». Четвертая ЦП (*Orl*) исследовалась в 2018 г. в Тамбовском районе Тамбовской области, окрестности с. Орловское, на территории памятника природы «Осиновый овраг».

В качестве учетной единицы принимали особи генеративного зрелого онтогенетического состояния (*g2*) [2]. Возрастное состояние генеративных особей определяли согласно указаниям Н. И. Федорова [11]. В каждой ЦП у 30 случайно выбранных растений измерялись следующие количественные признаки: высота растения, диаметр растения, число генеративных побегов, длина генеративного побега, число листьев на генеративном побеге, длина междуузлия, диаметр стебля в середине третьего снизу междуузлия, число цветков в соцветии, длина соцветия, число паракладиев первого порядка, длина наиболее развитого паракладия, длина чашелистика, ширина чашелистика, длина шпорца, ширина шпорца, длина листовой пластины, длина нерасчлененной части листовой пластины, длина центрального сегмента средней лопасти, ширина листовой пластины, ширина основания центральной доли, максимальная ширина средней лопасти, ширина основания средней лопасти, длина черешка, ширина черешка, длина прицветника, ширина прицветника, длина прицветничка, ширина прицветничка, длина цветоножки.

Одна из главных задач при оценке жизненности – это отбор признаков, являющихся по-

казательными и удобными для измерения. По мнению Ю. А. Злобина [12], при выборе ключевых параметров следует отдавать предпочтение экологически и биологически важным, наиболее вариабельным, вносящим наибольший вклад в главные компоненты признакам, принимая во внимание при этом их взаимосвязь друг с другом.

Выбор признаков для виталитетного анализа проводили с учетом корреляционных связей между ними. Корреляционный анализ выполнен с использованием непараметрического коэффициента корреляции Спирмена [13] в программе Past 3.0 [14]. Графическое изображение корреляционной матрицы в виде плеяды Терентьева выполнено в программном модуле GRAPHS [15, 16]. Коэффициенты корреляции по силе связи были разделены на 4 группы: 1) $r > 0,81$ – очень сильная связь; $r_s = 0,71–0,8$ – сильная связь; $r = 0,61–0,7$ – умеренная связь; $r = 0,5–0,6$ – слабая связь [17].

Оценку среднего уровня связей между признаками проводили, используя квадрат коэффициента корреляции (r^2), усредненный по отдельным признакам (R^2ch). По коэффициентам C_V и R^2ch проведен сравнительный анализ общей и сопряженной изменчивости признаков *D. litwinowii*. Согласно методике выделены четыре группы системных индикаторов: 1) экологические, 2) эколого-биологические, 3) биологические, 4) генотипические [18].

Факторный анализ выполнен в программе Past 3.0 [14] методом главных компонент (PCA)

с целью определения морфологических характеристик, имеющих наибольшие значения факторной нагрузки на главные компоненты. Данные для факторного анализа были предварительно стандартизированы.

Изменчивость морфологических признаков определялась по коэффициентам вариации с учетом шкалы изменчивости для травянистых растений [19]: $C_V < 7\%$ – очень низкий, $C_V = 7\text{--}15\%$ – низкий, $C_V = 16\text{--}25\%$ – средний, $C_V = 26\text{--}35\%$ – повышенный, $C_V = 36\text{--}50\%$ – высокий, $C_V > 50\%$ – очень высокий уровень.

Для оценки виталитета использовали индекс виталитета особи IVI. Ранжированный по индексу виталитета ряд особей разбивали на три класса виталитета – высший (*a*), средний (*b*) и низший (*c*). Установление границ класса *b* проводили в пределах границ доверительного интервала среднего значения ($x_{ср} \pm \sigma$). Для характеристики виталитетной структуры использовали индекс виталитета ЦП (IVC) [20, 21].

Виталитетный тип ЦП определяли с использованием критерия *Q*: процветающие – $Q = 1/2(a+b) > c$; равновесные – $Q = 1/2(a+b) = c$; депрессивные – $Q = 1/2(a+b) < c$ [2]. Для оценки степени процветания или депрессивности ЦП применяли индекс $I_Q = (a+b)/2c$. При этом значения выше единицы соответствовали процветающему состоянию, а значения ниже единицы – депрессивному. Степень отклонения от единицы, соответствующей равновесному состоянию, отражает степень процветания или депрессии. В случае отсутствия особей класса *c* с целью расчета I_Q их долю принимали равной 0.001 [20].

Отношением максимального значения IVC к его минимальному значению в пределах исследованных нами ЦП была вычислена размерная пластиность *D. litwinowii*: ISP (индекс размерной пластиности) = IVC_{\max}/IVC_{\min} [20, 21].

Определение онтогенетической стратегии выживания вида проведено по характеру изменения морфологической целостности растений, оцениваемой по коэффициенту детерминации признаков (как среднего значения квадратов коэффициентов попарной корреляции всех признаков – R^2m) на экоклине, представляющем собой градиент ухудшения условий роста, выраженным как ряд ЦП по убыванию значения их индексов виталитета IVC. Выделяют 4 типа онтогенетических стратегий: защитная – с усиливением стресса происходит усиление координации развития растений (повышается морфологическая целостность растения); стрессовая – с усиливением стресса ослабляется координация

развития (снижается морфологическая целостность растения); защитно-стрессовая – при нарастании стресса происходит сначала усиление, а затем ослабление координации развития растений; стрессово-защитная – при нарастании стресса сначала происходит ослабление, а затем усиление координированности развития (чредование стрессовой и защитной компонент) [20, 21].

Результаты и их обсуждение

В целом при рассмотрении результатов корреляционного анализа обращает на себя внимание слабая детерминированность морфологических признаков, о чем свидетельствует малое число связей достаточно значимой силы ($r > 0,5$) (рис. 2). Тем не менее очень сильная корреляционная связь ($r > 0,8$) была отмечена между параметрами: высота растения (1) и длина генеративного побега (4); число цветков в соцветии (8) и число паракладиев первого порядка (10). Сильная связь ($r > 0,7$) отмечена между параметрами соцветия – длиной соцветия (9) и длиной наиболее развитого паракладия (11), показателями листовой пластины – длиной (16) и шириной (19), а также длиной центрального сегмента средней лопасти (18). При этом максимальное число связей с достоверной корреляционной связью разной силы имели: длина соцветия (9), длина (16) и ширина листовой пластины (19). Все связи силы достоверны при $p \leq 0,05$. На основании изложенного к числу ключевых признаков следует отнести длину генеративного побега, длину соцветия, число цветков в соцветии, длину и ширину листовой пластины. Данные признаки в пределах плеяды образуют группы параметров, характеризующих: 1) вертикальную структуру растения и соцветия; 2) лист.

Как отмечалось ранее, при выборе ключевых параметров следует учитывать биолого-экологические свойства видов. Поэтому предпочтение следует отдавать экологическим, эколого-биологическим и биологическим системным индикаторам.

По результатам исследования структуры морфологической изменчивости (рис. 3), проведенного в ЦП *D. litwinowii* по 29 количественным морфологическим признакам, в группу экологических системных индикаторов (см. рис. 3, I), в большей степени зависящих от условий внешней среды и слабо связанных с изменениями других признаков, попал лишь один признак – число генеративных побегов (3).

К эколого-биологическим системным индикаторам (см. рис. 3, II), т. е. признакам, отражающим согласованную изменчивость особей

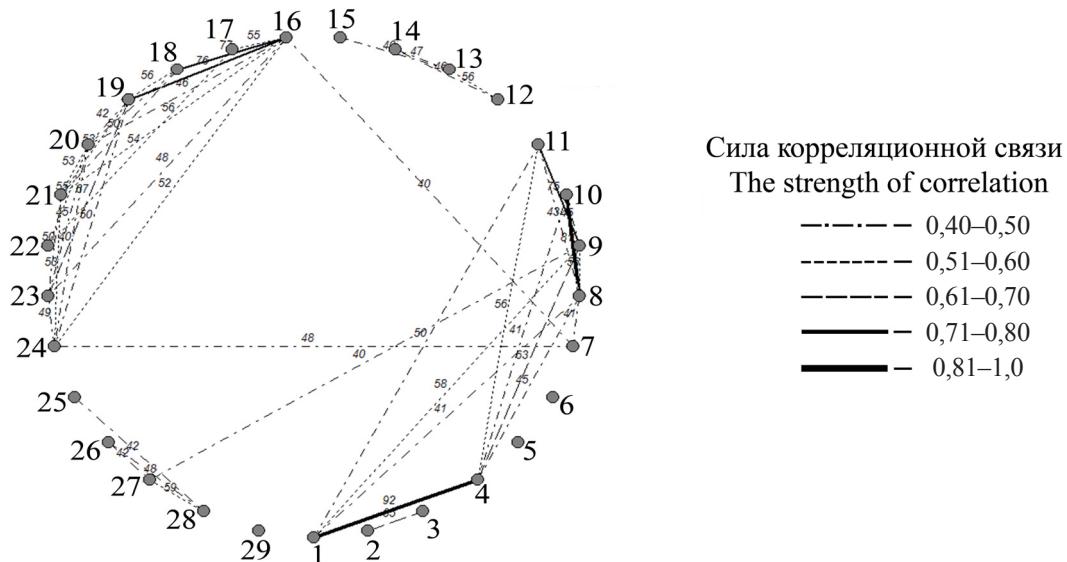


Рис. 2. Корреляционные связи морфологических параметров *Delphinium litwinowii*: 1 – высота растения; 2 – диаметр растения; 3 – число генеративных побегов; 4 – длина генеративного побега; 5 – число листьев на побеге; 6 – длина междуузлия; 7 – диаметр стебля в середине третьего снизу междуузлия; 8 – число цветков в соцветии; 9 – длина соцветия; 10 – число паракладиев первого порядка; 11 – длина наиболее развитого паракладия; 12 – длина чашелистика; 13 – ширина чашелистика; 14 – длина шпорца; 15 – ширина шпорца; 16 – длина листовой пластины; 17 – длина нерасчлененной части листовой пластины; 18 – длина центрального сегмента средней лопасти; 19 – ширина листовой пластины; 20 – ширина основания центрального сегмента средней лопасти; 21 – максимальная ширина средней лопасти; 22 – ширина основания средней лопасти; 23 – длина черешка; 24 – ширина черешка; 25 – длина прицветника; 26 – ширина прицветника; 27 – длина прицветничка; 28 – ширина прицветничка; 29 – длина цветоножки. Приведены значения коэффициента корреляции Спирмена: $r = 0,50–0,60$ – слабая связь; $r = 0,61–0,70$ – умеренная связь; $r = 0,71–0,80$ – сильная связь; $r = 0,80–1,0$ – очень сильная связь

Fig. 2. Correlations of morphological parameters of *Delphinium litwinowii*: 1 – plant height; 2 – plant diameter; 3 – number of generative shoots; 4 – length of the generative shoot; 5 – number of leaves on the shoot; 6 – length of internodes; 7 – diameter of the stem; 8 – number of flowers in the inflorescence; 9 – length of the inflorescence; 10 – number of paraclades of the first order; 11 – length of the most developed paraclade; 12 – length of the sepal; 13 – width of the sepal; 14 – length of the spur; 15 – width of the spur; 16 – length of the leaf plate; 17 – length of the undifferentiated part of the leaf plate; 18 – length of the central segment of the middle blade; 19 – width of the leaf plate; 20 – width of the base of the central segment of the middle blade; 21 – maximum width of the middle blade; 22 – width of the base of the middle lobe; 23 – stem length; 24 – width of the stem; 25 – length of the bract; 26 – width of the bract; 27 – length of the small bract; 28 – width of the small bract; 29 – pedicel length. The values of the Spearman correlation coefficient are given: $r = 0,50–0,60$ – weak correlation; $r = 0,61–0,70$ – moderate correlation; $r = 0,71–0,80$ – strong correlation; $r = 0,80–1,0$ – very strong correlation

в неоднородной среде, не отнесен ни один из представленных морфометрических показателей.

К группе биологических системных индикаторов (см. рис. 3, IV), в меньшей степени зависящих от условий среды, но обладающих общей согласованной изменчивостью, являясь при этом ключевыми для всей морфологической структуры особи, отнесены следующие признаки: высота растения (1), длина генеративного побега (4), диаметр стебля в середине третьего снизу междуузлия (7), число цветков в соцветии (8), длина соцветия (9), число паракладиев первого порядка (10), длина наиболее развитого паракладия (11), длина листовой пластины (16), длина центрального сегмента средней лопасти

(18), ширина листовой пластины (19), ширина основания центральной доли (20), максимальная ширина средней лопасти (21), длина черешка (23), ширина черешка (24).

К группе генотипических (таксономических) системных индикаторов отнесены: диаметр куста (2), число листьев на побеге (5), длина междуузлия (6), длина чашелистика (12), ширина чашелистика (13), длина шпорца (14), ширина шпорца (15), длина нерасчлененной части листовой пластины (17), ширина основания средней лопасти (22), длина прицветника (25), ширина прицветника (26), длина прицветничка (27), ширина прицветничка (28), длина цветоножки (29) (см. рис. 3, III).

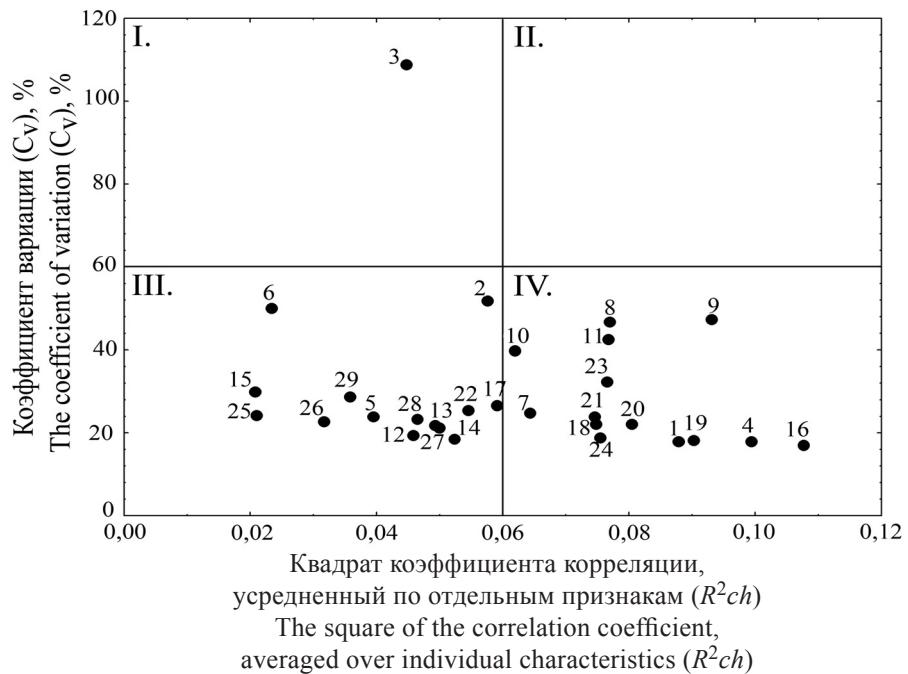


Рис. 3. Ординация морфологических параметров *Delphinium litwinowii* по структуре морфологической изменчивости: 1 – высота растения; 2 – диаметр растения; 3 – число генеративных побегов; 4 – длина генеративного побега; 5 – число листьев на побеге; 6 – длина междуузлия; 7 – диаметр стебля в середине третьего снизу междуузлия; 8 – число цветков в соцветии; 9 – длина соцветия; 10 – число паракладиев первого порядка; 11 – длина наиболее развитого паракладия; 12 – длина чашелистика; 13 – ширина чашелистика; 14 – длина шпорца; 15 – ширина шпорца; 16 – длина листовой пластины; 17 – длина нерасчлененной части листовой пластины; 18 – длина центрального сегмента средней лопасти; 19 – ширина листовой пластины; 20 – ширина основания центрального сегмента средней лопасти; 21 – максимальная ширина средней лопасти; 22 – ширина основания средней лопасти; 23 – длина черешка; 24 – ширина черешка; 25 – длина прицветника; 26 – ширина прицветника; 27 – длина прицветничка; 28 – ширина прицветничка; 29 – длина цветоножки. Группы системных индикаторов: I – экологические; II – эколого-биологические; III – генотипические; IV – биологические

Fig. 3. The ordination of morphological parameters of *Delphinium litwinowii* on the structure of morphological variability: 1 – plant height; 2 – plant diameter; 3 – number of generative shoots; 4 – length of the generative shoot; 5 – number of leaves on the shoot; 6 – length of internodes; 7 – diameter of the stem; 8 – number of flowers in the inflorescence; 9 – length of the inflorescence; 10 – number of paraclades of the first order; 11 – length of the most developed paraclade; 12 – length of the sepal; 13 – width of the sepal; 14 – length of the spur; 15 – width of the spur; 16 – length of the leaf plate; 17 – length of the undifferentiated part of the leaf plate; 18 – length of the central segment of the middle blade; 19 – width of the leaf plate; 20 – width of the base of the central segment of the middle blade; 21 – maximum width of the middle blade; 22 – width of the base of the middle lobe; 23 – stem length; 24 – width of the stem; 25 – length of the bract; 26 – width of the bract; 27 – length of the small bract; 28 – width of the small bract; 29 – pedicel length. System indicator groups: I – ecological; II – ecological-biological; III – genotypic; IV – biological

Таким образом, ключевые признаки, выявленные в ходе анализа корреляционной матрицы, относятся к группе биологических индикаторов.

На основании факторного анализа (табл. 1) выявлено, что наибольшую положительную нагрузку (0,7–0,8) на первые две компоненты (объясняющие в совокупности наибольший

процент от общей дисперсии – 35%) имели: по первой компоненте – длина листовой пластины, по второй – длина соцветия.

Анализ рассчитанных коэффициентов вариации ключевых параметров с учетом шкалы изменчивости для травянистых растений [19] показал, что два показателя (длина соцветия и число цветков в соцветии) имеют высокий



Таблица 1 / Table 1

Результаты факторного анализа признаков *Delphinium litwinowii*
The results of the factor analysis of the parameters of *Delphinium litwinowii*

№	Признак Parameter	Первая компоненты The first component (PC 1)	Вторая компоненты The second component (PC 2)
1	Высота растения, см / Plant height, cm	0,47	0,48
2	Диаметр куста, см / Plant diameter, cm	0,33	-0,24
3	Число генеративных побегов, шт. / Number of generative shoots, pcs	0,17	-0,25
4	Длина генеративного побега, см / Length of the generative shoot, cm	0,50	0,55
5	Число листьев на побеге, шт. / Number of leaves on the shoot, pcs	0,34	-0,27
6	Длина междуузлия, см / Length of internodes, cm	0,41	0,14
7	Диаметр стебля в середине третьего снизу междуузлия, см / Diameter of the stem, cm	0,64	0,13
8	Число цветков в соцветии, шт. / Number of flowers in the inflorescence, pcs	0,56	0,41
9	Длина соцветия, см / Length of the inflorescence, cm	0,39	0,79
10	Число паракладиев первого порядка, шт. / Number of paraclades of the first order, pcs	0,43	0,31
11	Длина наиболее развитого паракладия, см / Length of the most developed paraclade, cm	0,50	0,63
12	Длина чашелистика, мм / Length of the sepal, mm	-0,06	0,49
13	Ширина чашелистика, мм / Width of the sepal, mm	0,04	0,54
14	Длина шпорца, мм / Length of the spur, mm	-0,14	0,61
15	Ширина шпорца, мм / Width of the spur, mm	0,18	0,43
16	Длина листовой пластины, мм / Length of the leaf plate, mm	0,70	-0,33
17	Длина нерасчлененной части листовой пластины, мм / Length of the undifferentiated part of the leaf plate, mm	0,56	-0,34
18	Длина центрального сегмента средней лопасти, мм / Length of the central segment of the middle blade, mm	0,57	-0,33
19	Ширина листовой пластины, мм / Width of the leaf plate, mm	0,60	-0,40
20	Ширина основания центральной доли, мм / Width of the base of the central segment of the middle blade, mm	0,68	-0,24
21	Максимальная ширина средней лопасти, мм / Maximum width of the middle blade, mm	0,65	-0,18
22	Ширина основания средней лопасти, мм / Width of the base of the middle lobe, mm	0,53	-0,29
23	Длина черешка, мм / Stem length, mm	0,64	-0,30
24	Ширина черешка, мм / Width of the stem, mm	0,68	0,01
25	Длина прицветника, мм / Length of the bract, mm	-0,005	0,13
26	Ширина прицветника, мм / Width of the bract, mm	0,13	0,21
27	Длина прицветничка, мм / Length of the small bract, mm	0,07	0,43
28	Ширина прицветничка, мм / Width of the small bract, mm	-0,078	-0,20
29	Длина цветоножки, мм / Pedicel length, mm	0,37	-0,001
30	Дисперсия, % / Variance, %	20,564	14,417

Примечание. Выделены признаки, имеющие наибольшую положительную нагрузку на компоненты (объясняющие в совокупности наибольший процент от общей дисперсии – 35%): по первой компоненте (PC 1) – длина листовой пластины (0,70), по второй (PC 2) – длина соцветия (0,79).

Note. The parameters that have the greatest positive load on the components (explaining in aggregate the largest percentage of the total dispersion – 35%) are highlighted: the first component (PC 1) is the length of the leaf plate (0,70), the second (PC 2) is the length of the inflorescence (0,79).

уровень вариабельности. Остальные 3 признака (длина генеративного побега, длина и ширина листовой пластины) отличались средним уровнем вариабельности.

Таким образом, для окончательного анализа нами был выбраны следующие морфологические характеристики: длина генеративного побега, длина соцветия, число цветков в соцветии, длина и ширина листовой пластины. Данный детерминирующий комплекс признаков, по нашему мнению, в полной мере характеризует развитие растений *D. litwinowii* и достаточен для описания виталитетной структуры изученных ЦП.

В ЦП *D. litwinowii*, за исключением ЦП *Vla*, преобладали особи среднего класса виталитета (*b*) (рис. 4). В ЦП *Ost* за два года наблюдений особи высшего класса (*a*) играли более заметную роль, чем в остальных ЦП. Как уже было отмечено, в ЦП из Воронежской области (*Vla*) доминирующей была доля особей низшего класса (*c*), при этом особи, которые отличались бы наилучшими показателями развития (*a*), отсутствовали. Показательно, что в ЦП *Ppr* в 2017 г. наблюдалось полное отсутствие особей низшего класса виталитета, доля которых уже в следующем 2018 г. составила 20%, превысив, тем самым, количество особей класса *a*.

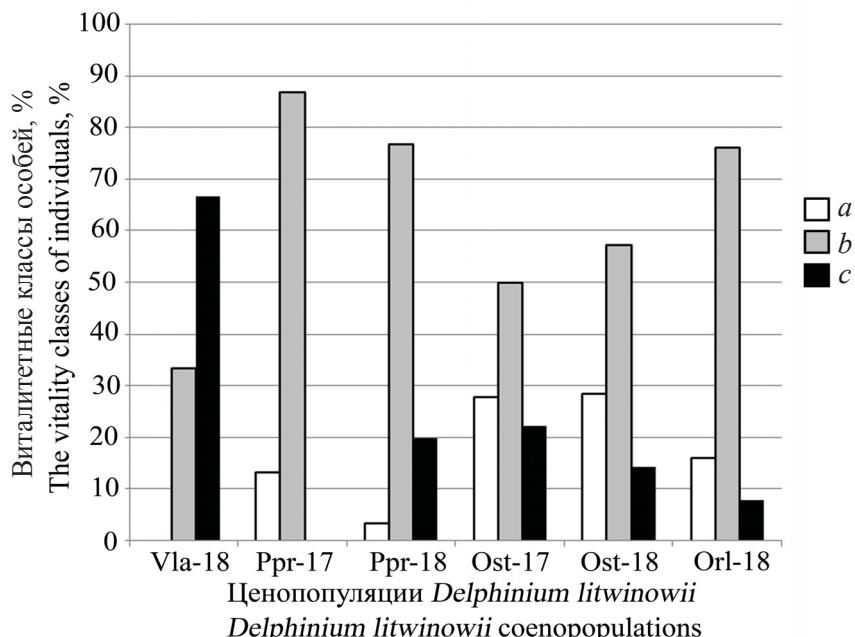


Рис. 4. Виталитетная структура ценопопуляций *Delphinium litwinowii*. Виталитетные

классы растений: *a* – высший; *b* – средний; *c* – низший

Fig. 4. Vitality of *Delphinium litwinowii* coenopopulations. Vitality classes of plants:
a – highest; *b* – medium; *c* – lower

Согласно критерию *IVC*, наибольшей жизненностью отличались более северные пензенские ЦП *Ost* и *Ppr* в 2017 г., а наименьшей – расположенная южнее воронежская ЦП *Vla*. Большинство популяций за период наблюдений, согласно рассчитанным индексам *Q* и I_Q , оценены как процветающие; ЦП *Vla* определена как депрессивная (табл. 2).

Индекс размерной пластичности *D. litwinowii* составил – 1,42. Размерная пластичность вида вполне согласуется с таковой для редких растений. У *Cephalanthera rubra* (L.) Rich., например, *ISP* равен 1,31. В то же время пластичность *D. litwinowii* гораздо ниже пластичности рудеральных травянистых растений (для циклахены дурнишниколистной *ISP* соста-

вил 4,95, для лебеды татарской – 6,28) [20, 21].

Таким образом, на основании проведенного анализа на данный момент трудно говорить о стабильном изменении в положительную или отрицательную сторону показателя жизненности в пределах изученных ЦП ввиду малого срока проведения исследования. В ЦП из Пензенской области, изучаемых в течение двух сезонов, отмечено снижение жизненности в 2018 г. по сравнению с таковой в 2017 г.

У *D. litwinowii* при нарастании стресса происходит сначала ослабление, а затем усиление взаимообусловленности в развитии структур растения. Иными словами, наблюдается чередование стрессовой и защитной компонент в онтогенетической стратегии (рис. 5.) Возрас-



Таблица 2 / Table 2

Характеристики жизненности и виталитетного типа ценопопуляций *D. litwinowii*
Characteristics of vitality and vital type of *D. litwinowii* cenopopulations

Ценопопуляция Cenopopulation	Год / Year	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>IVC</i>	<i>I_Q</i>	<i>Q</i>	Виталитетный тип Vitality type
<i>Vla</i>	2018	0	33,33	66,67	0,77	0,25	16,67	Депрессивная / Depressive
<i>Ppr</i>	2017	13,33	86,67	0,001	1,08	50 000,0	50,0	Процветающая / Prosperous
	2018	3,33	76,67	20,0	0,93	2,0	40,0	Процветающая / Prosperous
<i>Ost</i>	2017	27,78	50	22,22	1,09	1,75	38,89	Процветающая / Prosperous
	2018	28,58	57,14	14,28	1,04	3,0	42,86	Процветающая / Prosperous
<i>Orl</i>	2018	16,0	76,0	8,0	0,99	5,75	46,0	Процветающая / Prosperous

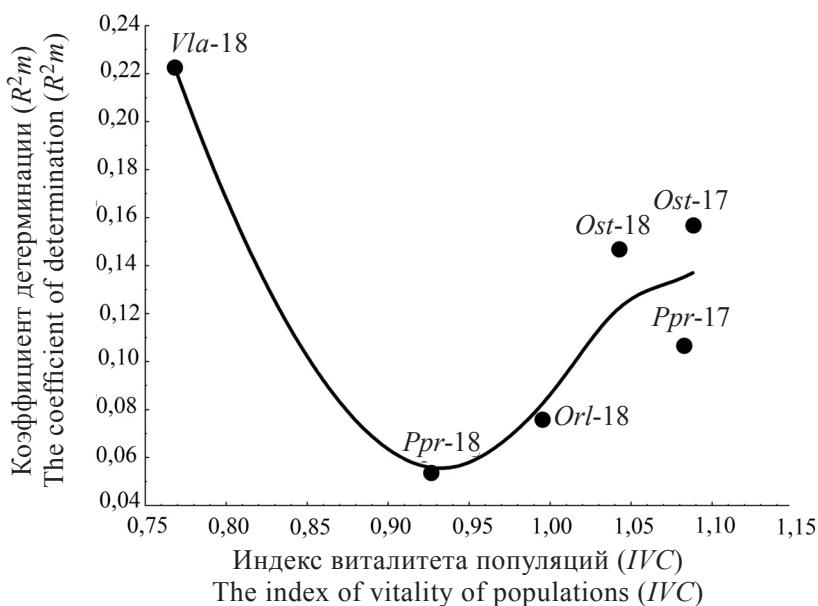


Рис 5. Онтогенетическая стратегия *Delphinium litwinowii*
Fig 5. Ontogenetic strategy *Delphinium litwinowii*

тающий стресс усиливает детерминированность в развитии морфоструктур *D. litwinowii*. Так, наибольшее значение коэффициента детерминации отмечено в ЦП из Воронежской области, окрестности с. Владимировка. В то же время именно этой ценопопуляции соответствует наименьшее значение индекса виталитета, что говорит о наименее благоприятных условиях произрастания.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-34-00061).

Список литературы

1. Заугольнова Л. Б., Жукова Л. А., Комаров А. С. Ценопопуляции растений (очерки популяционной биологии). М. : Наука, 1988. 184 с.
2. Злобин Ю. А. Принципы и методы изучения ценотических популяций растений. Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1989. 146 с.
3. Агафонов В. А. Роды *Vincetoxicum* Wolf и *Delphinium* L. во флоре Центрального Черноземья // Состояние и проблемы экосистем среднерусской лесостепи : тр. Биол. учеб.-науч. центра ВГУ «Веневитиново». Вып. 19. Воронеж, 2005. С. 137–140.
4. Агафонов В. А. Степные, кальцефильные, псаммофильные и галофильные эколого-флористические ком-

- плексы бассейна Среднего Дона : их происхождение и охрана. Воронеж : Воронеж. гос. ун-т, 2006. 250 с.
5. Цвелеев Н. Н. О некоторых родах семейства лютиковых (Ranunculaceae) в Восточной Европе // Бот. журн. 1996. Т. 81, № 12. С. 112–122.
 6. Цвелеев Н. Н. Род 10. Живокость – *Delphinium* L. // Флора Восточной Европы / под ред. Н. Н. Цвелеева. СПб. : Мир и семья ; Изд-во СПХФА, 2001. Т. 10. С. 66–74.
 7. Агафонов В. А. Живокость Литвинова *Delphinium litwinowii* Sambuk // Красная книга Воронежской области : в 2 т. Т. 1. Растения. Лишайники, грибы / науч. ред. В. А. Агафонов. Воронеж : МОДЭК, 2011. С. 171–172.
 8. Чистякова А. А. Живокость клиновидная *Delphinium cuneatum* Stev. ex DC // Красная книга Пензенской области. Т. 1. Растения и грибы / науч. ред. А. И. Иванов. Пенза : Пенз. правда, 2002. С. 186.
 9. Усова Г. С. Живокость клиновидная *Delphinium cuneatum* Stev. ex DC. // Красная книга Тамбовской области: Растения, лишайники, грибы / Г. С. Усова, В. А. Агафонов [и др.]. Тамбов : ИЦ Тамбовполиграфиздат, 2002. С. 135.
 10. The Plant List. URL: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2760002> (дата обращения: 01. 04. 2019).
 11. Федоров Н. И. Род *Delphinium* L. на Южном Урале: экология, популяционная структура и биохимические особенности. Уфа: Гилем, 2003. 149 с.
 12. Злобин Ю. А. Популяционная экология растений : современное состояние, точки роста. Сумы : Универ. книга, 2009. 263 с.
 13. Лакин Г. Ф. Биометрия : учеб. пособие для биол. спец. вузов. 4-е изд. М. : Высш. шк., 1990. 352 с.
 14. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Palaeonto-logical Statistics software package for education and data analysis// Palaeontological Electronica. 2001. Vol. 4. P. 1–9.
 15. Новаковский А. Б. Обзор современных программных средств, используемых для анализа геоботанических данных // Растительность России. 2006. № 9. С. 86–96.
 16. Заугольнова Л. Б., Браславская Т. Ю. Методические подходы к экологической оценке лесного покрова в бассейне малой реки. М. : Т-во науч. изд. КМК, 2010. 383 с.
 17. Пархоменко В. М., Кашин А. С. Состояние ценопопуляций *Hypericum perforatum* L. в Саратовской области : изменчивость морфометрических признаков и стратегия выживания // Растительные ресурсы. 2011. Т. 47, вып. 4. С. 1–18.
 18. Ростова Н. С. Корреляции: структура и изменчивость. СПб. : Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2002. 308 с.
 19. Мамаев С. А., Чуйко Н. М. Индивидуальная изменчивость признаков листьев у дикорастущих видов костянки // Индивидуальная эколого-географическая изменчивость растений. Свердловск : УрНЦ АН СССР, 1975. С. 114–118.
 20. Ишбирдин А. Р., Ишмуратова М. М., Жирнова Т. В. Стратегии жизни ценопопуляции *Cephalanthera rubra* (L.) Rich. на территории Башкирского государственного заповедника // Вестн. Нижегород. ун-та им. Н. И. Лобачевского. Сер. Биология. 2005. Вып. 1. С. 85–98.
 21. Ишбирдин А. Р., Ишмуратова М. М. Адаптивный морфогенез и эколого-ценотические стратегии выживания травянистых растений // Методы популяционной биологии : сб. материалов VII Всерос. популяционного семинара (Сыктывкар, 16–21 февраля 2004 г.). Сыктывкар, 2004. Ч. 2. С. 113–120.

Образец для цитирования:

Богослов А. В., Кашин А. С., Шилова И. В., Крицкая Т. А., Пархоменко А. С., Гребенюк Л. В. Виталитетная структура и онтогенетическая стратегия *Delphinium litwinowii* (Ranunculaceae) // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 295–304. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-295-304>

Vitality Structure and Ontogenetic Strategy of *Delphinium litwinowii* (Ranunculaceae)

**A. V. Bogoslov, A. S. Kashin, I. V. Shilova,
T. A. Krtskaya, A. S. Parhomenko, L. V. Grebenyuk**

Artem V. Bogoslov, <https://orcid.org/0000-0002-2248-1285>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, dandelioncave@mail.ru

Alexandr S. Kashin, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, kashinas2@yandex.ru

Irina V. Shilova, <https://orcid.org/0000-0002-9828-4229>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, schiva1952@yandex.ru

Tatyana A. Krtskaya, <https://orcid.org/0000-0003-0181-3022>Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, kriczkaya.tatyana@mail.ru

Alena S. Parhomenko, <https://orcid.org/0000-0002-9948-7298>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, parkhomenko_as@mail.ru

Liudmila V. Grebenyuk, <https://orcid.org/0000-0003-0812-8861>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, grebenuk2@yandex.ru

The article presents the results of a study of the vitality structure of four *Delphinium litwinowii* Sambuk coenopopulations from the Penza, Tambov and Voronezh regions in the period from 2017 to 2018. The most northern coenopopulation from Penza region in 2017 showed the strongest vitality, while the weakest was the Voronezh' coenopopulation, located to the south, near the village of Vladimirovka. Most of the coenopopulations over the observation period are rated as prosperous; coenopopulation from the vicinity of the village of Vladimirovka is defined as depressive. The index of dimensional plasticity of *D. litwinowii* is rather low – 1,42. In *D. litwinowii*, with an increase of stress, there is first a weakening, and then an increase in interdependence in the development of plant structures – in other words, there is an alternation of the stress and protective component in the ontogenetic strategy.

Keywords: *Delphinium litwinowii*, rare species, morphometry, correlation, vitality.

Acknowledgements: This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project No. 18-34-00061).

References

1. Zaugol'nova L. B., Zhukova L. A., Komarov A. S. *Cenopo-pulyacii rasteniy (ocherki populyacionnoy biologii)* [Plant cenopopulations (population biology essays)]. Moscow, Nauka Publ., 1988, 184 p. (in Russian).
2. Zlobin Yu. A. *Principy i metody izucheniya cenoticheskikh populyaciy rasteniy* [Principles and methods of studying coenotic plant populations]. Kazan, Izd-vo Kazan. un-ta, 1989, 146 p. (in Russian).
3. Agafonov V. A. Rody *Vincetoxicum* Wolf i *Delphinium* L. vo flore Central'nogo Chernozem'ya [Genera *Vincetoxicum* Wolf and *Delphinium* L. in the flora of the Central Chernozemie]. *Sostoyanie i problemy ekosistem srednerusskoy lesostepi: Tr. Biol. ucheb.-nauch. centra VGU «Venevitinovo»* [Proceedings of the biological educational and scientific center “Venevitinovo” Voronezh State University]. Voronezh, 2005, iss. 19, pp. 137–140 (in Russian).
4. Agafonov V. A. *Stepnye, kal'cefil'nye, psammofil'nye i galofil'nye ekologo-floristicheskie kompleksy basseyyna Srednego Dona: ikh proiskhozhdenie i ohrana* [Steppe, calciphilic, psammophilic and halophilic eco-floristic complexes of the Middle Don basin: their origin and protection]. Voronezh, Voronezh State University, 2006, 250 p. (in Russian).
5. Tzvelev N. N. O nekotorykh rodakh semeystva lyutikovykh (Ranunculaceae) v Vostochnoy Evrope [On some genera of the family Ranunculaceae in Eastern Europe]. *Botanicheskiy Zhurnal*, 1996, vol. 81, no. 12, pp. 112–122 (in Russian).
6. Tzvelev N. N. *Rod 10. Zhivotkost' – Delphinium L.* [Larks-pur – *Delphinium* L]. *Flora Vostochnoy Evropy. T. 10* [Flora of Eastern Europe]. Ed. by N. N. Tzvelev. St. Petersburg, Mir i sem'ya Publ.; Izd-vo SPHFA, 2001, vol. 10 pp. 66–74 (in Russian).
7. Agafonov V. A. *Zhivotkost' Litvinova Delphinium litwinowii Sambuk* [Larkspur Litwinowa *Delphinium litwinowii* Sam-buk]. *Krasnaya kniga Voronezhskoy oblasti. T. 1. Rasteniya. Lishayniki. Griby: v 2 t.* [The Red Book of the Voronezh region: in 2 vols. Vol. 1. Plants. Lichens. Mushrooms]. Sci. ed. V. A. Agafonov. Voronezh, MODEK, 2011, pp. 171–172 (in Russian).
8. Chistyakova A. A. *Zhivotkost' klinovidnaya Delphinium cuneatum Stev. ex DC.* [Larkspur wedge-shaped *Delphinium cuneatum* Stev. ex DC.]. *Krasnaya kniga Penzenskoy oblasti. T. 1. Rasteniya i griby. Nauch. red. A. I. Ivanov* [The Red Book of the Penza region. Vol. 1. Plants and mushrooms. Sci. ed. A. I. Ivanov]. Penza, Penzenskaya Pravda Publ., 2002, p. 186. (in Russian).
9. Usova G. S. *Zhivotkost' klinovidnaya Delphinium cuneatum Stev. ex DC* [Larkspur wedge-shaped *Delphinium cuneatum* Stev. ex DC]. *Krasnaya kniga Tambovskoy oblasti: Rasteniya, lishayniki, griby* [The Red Book of the Tambov region: Plants, lichens, mushrooms]. Usova G. S., Agafonov V. A. [et. al.]. Tambov, ITs Tambovpolygrafizdat, 2002, p. 135 (in Russian).
10. Fedorov N. I. *Rod Delphinium L. na Yuzhnom Urale: ekologiya, populyacionnaya struktura i biohimicheskie osobennosti* [The genus *Delphinium* L. in the Southern Urals: ecology, population structure and biochemical features]. Ufa, Gilem Publ., 2003. 149 p. (in Russian).
11. Fedorov N. I. *Rod Delphinium L. na Yuzhnom Urale: ekologiya, populyacionnaya struktura i biohimicheskie osobennosti* [The genus *Delphinium* L. in the Southern Urals: ecology, population structure and biochemical features]. Ufa, Gilem Publ., 2003. 149 p. (in Russian).
12. Zlobin Yu. A. *Populyacionnaya ekologiya rasteniy: sovremennoe sostoyanie, tochki rosta* [Population ecology of plants: current state, points of growth]. Sumy, Universitet-skaya kniga Publ., 2009. 263 p. (in Russian).
13. Lakin G. F. *Biometriya* [Biometrics]. Moscow, Vysshaya shkola Publ., 1990. 352 p. (in Russian).
14. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Palaeontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontological Electronica*, 2001, vol. 4, pp. 1–9.
15. Novakovskiy A. B. A review of the modern programs for the geobotanical analysis. *Vegetation of Russia*, 2006, no. 9, pp. 86–96 (in Russian).
16. Zaugol'nova L. B., Braslavskaya T. Yu. *Metodicheskie podhody k ekologicheskoy otsenke lesnogo pokrova v basseyne maloy reki* [Methodical approaches to the environmental assessment of forest cover in the basin of a small river]. Moscow, KMK Scientific Press Ltd., 2010. 383 p. (in Russian).
17. Parhomenko V. M., Kashin A. S. *Sostoyanie cenopopulyatsiy Hypericum perforatum L. v Saratovskoy oblasti: izmenchivost' morfometricheskikh priznakov i strategiya vyzhivaniya* [The state of coenopopulations of *Hypericum perforatum* L. in the Saratov region: variability of morphometric characteristics and survival strategy]. *Rastitel'nye resursy*, 2011, vol. 47, no. 4, pp. 1–18 (in Russian).
18. Rostova N. S. *Korrelyatsii: struktura i izmenchivost'* [Correlations: structure and variability]. St. Petersburg, Izd-vo S.-Peterb. un-ta, 2002. 308 p. (in Russian).
19. Mamaev S. A., Chujko N. M. *Individual'naya izmenchivost' priznakov list'ev u dikorastushchih vidov kostyaniki* [The individual variability of the characteristics of the leaves of wild species of stone bramble]. In: *Individual'naya ekologo-geograficheskaya izmenchivost' rasteniy* [Individual ecological and geographical variability of plants]. Sverdlovsk, UrNC AN SSSR, 1975, pp. 114–118 (in Russian).
20. Ishbirdin A. R., Ishmuratova M. M., Zhirnova T. V. *Strategii zhizni cenopopulyacii Cephalanthera rubra (L.) Rich. na territorii Bashkirskogo gosudarstvennogo zapovednika* [Life strategies of coenopopulation *Cephalanthera rubra* (L.) Rich. on the territory of the Bashkir State Reserve]. *Vestnik of Lobachevsky University of Nizhni Novgorod. Ser. Biology*, 2005, vol. 1, pp. 85–98 (in Russian).
21. Ishbirdin A. R., Ishmuratova M. M. *Adaptivnyy morfogeneticheskiy strategii vyzhivaniya travyanistykh rasteniy* [Adaptive morphogenesis and ecological-cenotic strategies for the survival of herbaceous plants]. *Metody populyacionnoy biologii: sb. materialov VII Vseros. populyatsionnogo seminara (Syktyvkar, 16–21 fevralya 2004 g.)* [Methods of population biology. Collection of materials of the VII All-Russian population workshop (Syktyvkar, February 16–21, 2004)]. Syktyvkar, 2004, part 2, pp. 113–120 (in Russian).

Cite this article as:

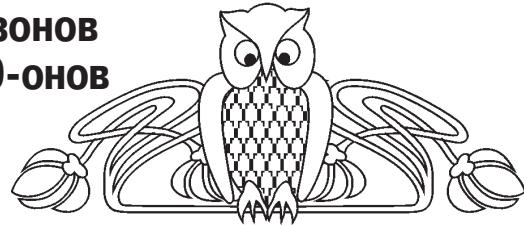
Bogoslov A. V., Kashin A. S., Shilova I. V., Kristskaya T. A., Parhomenko A. S., Grebenyuk L. V. Vitality Structure and Ontogenetic Strategy of *Delphinium litwinowii* (Ranunculaceae). *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 295–304 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-295-304>



УДК 581.144+547.71/72/78

Фитотестирование (тио)семикарбазонов 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов

Н. В. Миронова, В. В. Коробко, Н. В. Пчелинцева,
Я. Г. Крылатова, Е. С. Жестовская



Миронова Наталья Викторовна, студент биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, mironovanatasha97@mail.ru

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

Пчелинцева Нина Васильевна, доктор химических наук, профессор кафедры органической и биоорганической химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, pchelinzevan555@mail.ru

Крылатова Яна Георгиевна, кандидат химических наук, доцент кафедры органической и биоорганической химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, yana.krylatova@yandex.ru

Жестовская Елизавета Сергеевна, научный сотрудник Федерального государственного унитарного предприятия «Научный центр «Сигнал», Москва, zhestovskaya@gmail.com

Проведено фитотестирование N-производных бициклических кетонов соединений – (тио)семикарбазонов 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов, которые отличаются характером арильных заместителей и N-нуклеофила. Объектом исследования служили проростки яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Саратовская 36. Для оценки физиологической активности испытуемых соединений использовали сравнительный анализ морфометрических показателей роста корневой системы и побега опытных и контрольных растений, определяли количественное содержание хлорофилла a, хлорофилла b и каротиноидов в пластинке первого листа. Исследование физиологической активности (тио)семикарбазонов 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов показало, что испытуемые соединения в некоторых концентрациях оказывают влияние на рост надземной части растений, оказывают положительное действие на показатель корнеобеспеченности растений. Выявлена зависимость между ростом побега и концентрацией испытуемых растворов. Установлено, что (тио)семикарбазоны 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов в концентрации 10^{-6} М способствуют повышению содержания хлорофилла b и снижению соотношения хлорофиллов a/b.

Ключевые слова: карбоциклические соединения, биотестирование, *Triticum aestivum* L.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-305-311>

Карбоциклические соединения, являясь одним из основных классов органических соединений, чрезвычайно распространены в природе.

Интерес к изучению биологической активности этих соединений, в том числе и синтезированных, в настоящее время довольно высок и носит как научный, так и практический характер [1].

Впервые «мостиковый» непредельный кетон был получен почти 100 лет назад, и хотя эти соединения являются перспективными для проведения биоскрининговых исследований, так как содержат бициклононеноновый фрагмент, ответственный за биологическую активность природных аналогов [2–5], сведения о реакционной способности и биологических свойствах замещенных бициклононенонов немногочисленны [6]. Несмотря на возможность применения компьютерной оценки биологической активности синтезированных соединений [6–8], изучение влияния этих веществ на рост и развитие живых организмов является необходимой составляющей изучения их свойств [9, 10].

Цель работы – фитотестирование синтетических N-производных бициклических кетонов – (тио)семикарбазонов 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов, которые отличаются характером арильных заместителей и N-нуклеофила. Для реализации цели были поставлены следующие задачи: установить влияние (тио)семикарбазонов 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов на рост растений пшеницы; определить влияние (тио)семикарбазонов 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов на содержание фотосинтезирующих пигментов в листе проростков пшеницы.

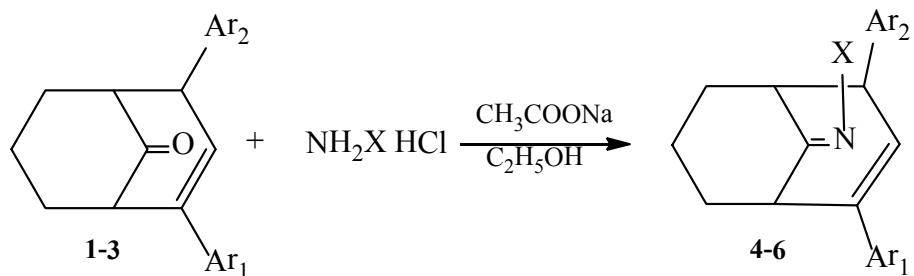
Материалы и методы

Исследования проводились на кафедре микробиологии и физиологии растений Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н. Г. Чернышевского.

Проведено тестирование следующих соединений: семикарбазона 2,4-дифенилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-она (СК), тиосемикарбазона 2-(4'-хлорфенил)-4-фенилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-она (ХТСК) и тиосемикарбазона 2-фенил-4-(4'-метоксифенил)бицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-она (МТСК). Данные соединения (4–6), отличающиеся характером арильных заместите-

лей и N-нуклеофила (4–6), получены с выходом 70–86% при кипячении в абсолютном этаноле с добавлением ацетата натрия или пропаноле-2 исходных кетонов с (тио)семикарбазидом на кафедре органической и биоорганической химии Института химии СГУ [11, 12]. Синтезированные N-производные 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов представляют собой бесцветные

кристаллические вещества с высокими температурами плавления, хорошо растворимые в этаноле, плохо – в хлороформе и воде. Получение (тио)семикарбазонов 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов: 1, 4 $\text{Ar}_1=\text{Ar}_2=\text{C}_6\text{H}_5$, X=NHC(O)-NH₂ (СК); 2,5 $\text{Ar}_1=4\text{-ClC}_6\text{H}_4$, $\text{Ar}_2=\text{C}_6\text{H}_5$, X=NHC(S)-NH₂ (ХТСК), 3,6 $\text{Ar}_1=\text{C}_6\text{H}_5$, $\text{Ar}_2=4\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$, X=NHC(S)-NH₂ (МТСК).



Объектом исследования служили проростки яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Саратовская 36. Для изучения влияния испытуемых соединений на рост растений неповрежденные, выровненные по размеру семена, характеризующиеся всхожестью $\geq 95\%$, проращивали в воде в течение 48 ч, затем переносили на водные растворы испытуемых веществ в концентрациях 10^{-6} , 10^{-9} и 10^{-12}M . Контролем служили растения, выращенные на дистиллированной воде.

Культивирование опытных и контрольных проростков осуществлялось в климатостате при температуре $+18^\circ \pm 1^\circ \text{C}$. Количественный учет роста проводили на семидневных проростках: определяли абсолютно сухую массу побега и корневой системы, длину и количество корней проростка, длину пластинки и влагалища первого листа ($n=20$). На основании полученных данных рассчитывали корневой индекс как среднее значение длины самых длинных корней, отнесенное к аналогичному в контроле. Корнеобеспеченность проростка определяли как отношение абсолютно сухой массы корневой системы к абсолютно сухой массе побега [13]. Количественное содержание фотосинтетических пигментов в пластинке первого листа определяли спектрофотометрическим методом [14] с использованием сканирующего спектрофотометра LEKI SS2109UV.

Результаты исследований подвергались статистической обработке в табличном процессоре Excel пакета MS Office 2010.

Результаты и их обсуждение

Проведенное исследование показало, что СК в концентрации 10^{-6}M оказывает ингибирующее действие на рост корней, тогда как менее

концентрированные растворы этого соединения обладают ростостимулирующими свойствами, которые максимально проявляются при культивировании растений на растворе СК в концентрации 10^{-9}M (таблица). ХТСК и МТСК оказывают положительное влияние на рост корневой системы (исключение составил раствор ХТСК в наименьшей концентрации из испытуемых). Следует отметить, что при культивировании растений на растворах МТСК наблюдается больший стимулирующий эффект, чем при культивировании на растворах ХТСК тех же концентраций.

Испытуемые N-производные 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов в некоторых концентрациях оказывают влияние на рост надземной части растений. Растворы СК и МТСК в наибольшей концентрации оказали ингибирующее действие на рост побега, тогда как раствор ХТСК аналогичный эффектоказал в наименьшей опытной концентрации. Стимулирующим действием характеризуются растворы СК в концентрации 10^{-9}M (на 22% выше контроля) и МТСК в концентрации 10^{-12}M (на 10% выше контроля). В других вариантах опыта влияние испытуемых соединений на рост побега не выявлено или является статистически недостоверным.

На основании анализа полученных данных выявлена зависимость между ростом побега и концентрацией испытуемых растворов: зависимость между длиной надземной части опытных растений и концентрацией раствора ХТСК имеет прямой характер, тогда как при культивировании на растворах МТСК зависимость обратная.

Проведено измерение абсолютно сухой массы побега и корневой системы, расчетан показатель корнеобеспеченности, который, по мнению



ряда авторов, характеризует устойчивость растений к неблагоприятным условиям окружающей среды [15, 16]. Корнеобеспеченность опытных растений превышает контрольные значения (исключение составили проростки, культивированные на растворе ХТСК). Максимальными значениями корнеобеспеченности – 1,19–1,21

отн. ед. – характеризуются проростки, выращенные на растворах СК и МТСК в концентрации 10^{-6} М. При уменьшении концентрации этих растворов показатель корнеобеспеченности снижается, составляя 1,13–1,15 отн. ед. у проростков, культивированных на СК и 1,09–1,12 – МТСК (см. таблицу).

Влияние (тио)семикарбазонов 2,4-диарилбисцикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов на рост корневой системы и побега проростков пшеницы сорта Саратовская 36

The influence of (thio)semicarbazones 2,4-diaryl bicyclo[3.3.1]non-2-en-9-ones on the growth of the root system and the shoot of wheat seedlings of the variety Saratovskaya 36

Тестируемое соединение / Test compound	Длина, мм / Length, mm		Корнеобеспеченность, отн. ед. / Root-availability, rel. Units
	корней / root	побега / shoot	
Контроль / Control	204,0 ± 8,20	54,3 ± 2,3	0,92
СК / SK	10 ⁻⁶ М	168,6 ± 7,05	1,19
	10 ⁻⁹ М	265,6 ± 12,3	1,15
	10 ⁻¹² М	251,8 ± 9,54	1,13
МТСК / CTSK	10 ⁻⁶ М	257,9 ± 11,2	1,21
	10 ⁻⁹ М	239,7 ± 9,91	1,10
	10 ⁻¹² М	240,8 ± 12,10	1,12
ХТСК / MTSC	10 ⁻⁶ М	242,0 ± 10,3	1,04
	10 ⁻⁹ М	230,3 ± 8,12	1,16
	10 ⁻¹² М	158,2 ± 7,01	0,91

Примечание. * – различия между контрольными и опытными значениями недостоверны; СК – семикарбазон 2,4-дифенилбисцикло[3.3.1]нон-2-ен-9-она; ХТСК – тиосемикарбазон 2- (4'-хлорфенил)-4-фенилбисцикло[3.3.1]нон-2-ен-9-она; МТСК – тиосемикарбазон 2-фенил-4-(4'-метоксифенил)бисцикло[3.3.1]нон-2-ен-9-она.

Note. * – differences between control and test values are not reliable; SK – semicarbazone 2,4-diphenylbicyclo[3.3.1]non-2-en-9-one; CTSK – thiosemicarbazone 2-(4'-chlorophenyl)-4-phenylbicyclo[3.3.1]non-2-en-9-one; MTSC – thiosemicarbazone 2-phenyl-4-(4'-methoxyphenyl)bicyclo[3.3.1]non-2-ene-9-one.

При действии ХТСК наибольшие значения исследуемого показателя – на 26% выше контрольных – отмечены при концентрации 10^{-9} М, наименьшие – при концентрации 10^{-12} М.

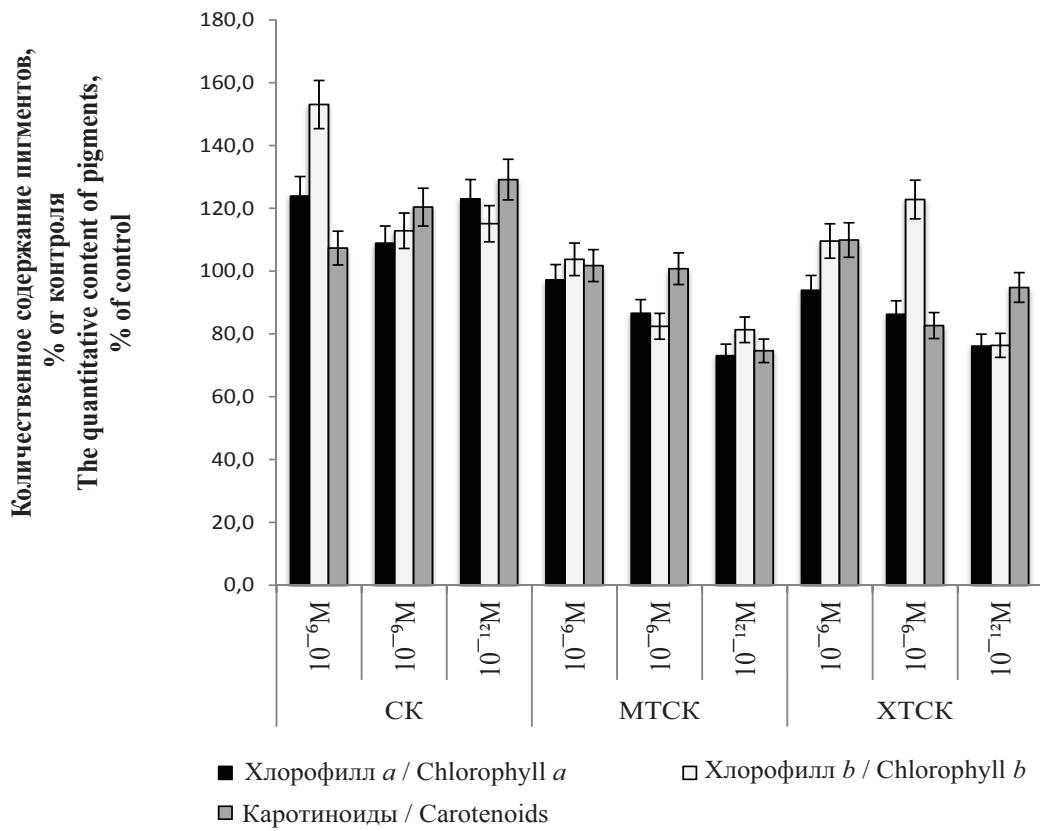
Корневой индекс проростков, выращенных на растворе СК в концентрации 10^{-9} М, имеет максимальное значение и на 26% выше, чем в контроле. Наименьшим корневым индексом – 76% от контроля – характеризуются проростки при действии раствора СК в концентрации 10^{-6} М. Значения корневого индекса семидневных проростков, культивированных на растворах МТСК, возрастают при снижении концентрации испытуемого раствора и превышают контроль на 11–16%, тогда как при культивировании растений на растворах ХТСК в ряду понижения концентрации опытного раствора наблюдается снижение данного показателя.

При изучении влияния испытуемых растворов на количественное содержание пигментов в пластинке первого листа не только учитывали абсолютное содержание пигментов в тканях лис-

та, но и вычисляли их соотношение. Изменение соотношения фотосинтетических пигментов приводит к изменению активности фотосинтетического аппарата, определяет скорость накопления ассимилятов, что в конечном итоге отражается на устойчивости, росте и продуктивности растений [17, 18].

Все испытуемые соединения в концентрации 10^{-6} М способствуют повышению содержания хлорофилла *b* и снижению соотношения хлорофиллов *a/b* (рисунок).

Принято считать, что повышение доли хлорофилла *b* в фотосинтезирующих тканях свидетельствует о повышении их светособирающей способности в области дальнего красного света [19]. А значит, показатель *a/b* определяет адаптационную способность к изменению условий окружающей среды, в первую очередь освещенности, позволяя регулировать процессы распределения ресурсов с целью поддержания оптимальных скоростей физиологических процессов.



Влияние (тио)семикарбазонов 2,4-диарилбисцикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов на содержание фотосинтетических пигментов в пластинке первого листа

The effect of (thio) semicarbazones 2,4-diaryl bicyclo [3.3.1] non-2-en-9-ones on the content of photosynthetic pigments in the plate of the first leaf

Первый лист растений, культивированных на растворах СК, характеризуется повышенным суммарным содержанием зеленых пигментов по сравнению с контролем на 10–31%. Максимальными значениями содержания хлорофилла *a* в листовой пластинке (на 24% выше контрольных значений) характеризуются растения, культивированные при концентрации раствора $10^{-6}M$ и $10^{-12}M$, хлорофилла *b* – при концентрации раствора $10^{-6}M$. При этом соотношение хлорофилла *a* и хлорофилла *b* при концентрации раствора $10^{-6}M$ составляет 2,54 мг/г (что меньше контроля на 19%) и повышается при разбавлении СК, составляя при наименьшей концентрации испытуемого раствора 3,36 мг/г, что незначительно (на 7%) превышает контроль.

При культивировании проростков на растворах МТСК и ХТСК сумма зеленых пигментов в пластинке первого листа опытных растений на 15–25% ниже (МТСК в концентрации $10^{-9}M$ и $10^{-12}M$, ХТСК – $10^{-12}M$) или не имеет существенного отличия от контроля (другие варианты опыта). Отмечено, что в ряду снижения концентрации ингибирующее действие растворов

МТСК и ХТСК на количественное содержание хлорофилла *a* усиливается. Раствор МТСК в концентрациях $10^{-9}M$ и $10^{-12}M$ негативно влияет на содержание хлорофилла *b* и не оказывает статистически значимого воздействия на данный показатель при концентрации $10^{-6}M$.

Показатель относительного содержания зеленых пигментов (*a/b*) при выращивании растений на растворах ХТСК и МТСК ниже контрольных значений, за исключением объектов, на рост которых оказали влияние растворы $10^{-9}M$ МТСК и $10^{-12}M$ ХТСК (различие анализируемого показателя функциональной активности листа контрольных и опытных растений статистически недостоверно).

Анализ количественного содержания каротиноидов в листе опытных растений показал, что их количество превышает контрольные значения и увеличивается в ряду снижения концентрации раствора СК на 7, 20 и 30% соответственно. Слабое положительное действие на содержание каротиноидов оказал раствор ХТСК в концентрации $10^{-6}M$, тогда как растворы меньшей концентрации характеризуются сни-



жающим количество каротиноидов действием. Установлено, что в варианте опыта с наименее концентрированным 10^{-12} М – раствором МТСК анализируемый показатель составляет 75% от контрольного значения, тогда как влияния МТСК двух других концентраций на количественное содержание каротиноидов в пластиинке первого листа опытных растений не обнаружено.

Количественное соотношение каротиноидов и хлорофиллов (Кар/Хл) используют для оценки стрессоустойчивости растений. Если принимать во внимание роль каротиноидов в защите фотосинтетического аппарата в условиях стресса, его повышение указывает на увеличение устойчивости фитообъекта в неблагоприятных условиях среды [20].

Для некоторых вариантов опыта установлено повышение соотношения каротиноидов и хлорофиллов относительно контрольного значения. Так, данный показатель фотосинтетической активности тканей листа растений, культивированных на растворе в концентрации 10^{-9} М, на 8% (СК) – 16% (МТСК) выше контроля. Соотношение каротиноидов и хлорофиллов в тканях листовой пластиинки растений, выращенных на растворе ХТСК 10^{-6} М и 10^{-12} М, составило 0,26 и 0,28, что на 11 и 23% выше, чем у растений, культивированных на воде.

Заключение

На основании проведенного исследования можно заключить, что семикарбазон 2,4-дифенилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-она (СК) оказывает ингибирующее действие на рост корней и побега в концентрации 10^{-6} М, при этом менее концентрированные растворы СК обладают ростостимулирующим действием. Тиосемикарбазон 2-(4'-хлорфенил)-4-фенилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-она (ХТСК) и тиосемикарбазон 2-фенил-4-(4'-метоксифенил)бицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-она (МТСК) оказывают положительное влияние на рост корневой системы (исключение составил 10^{-12} М ХТСК) и разный характер действия в отношении роста побега: наблюдается прямая зависимость между длиной надземной части опытных растений и концентрацией раствора ХТСК, тогда как при культивировании на растворах МТСК зависимость обратная.

Установлено, что испытуемые (тио)семикарбазоны 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов, отличающиеся характером арильных заместителей и N-нуклеофилом, в концентрации 10^{-6} М способствуют повышению содержания хлорофилла *b* и снижению соотношения хлорофиллов *a/b*. Семикарбазон 2,4-дифенилбицик-

ло[3.3.1]нон-2-ен-9-она (СК) в концентрации 10^{-6} М и тиосемикарбазон 2-(4'-хлорфенил)-4-фенилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-она (ХТСК) в концентрации 10^{-9} М оказывают негативное действие на соотношение каротиноидов и хлорофиллов, тогда как последний в концентрации 10^{-12} М, а также 10^{-9} М растворы тиосемикарбазона 2-фенил-4-(4'-метоксифенил)бицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-она (МТСК) способствуют повышению этого соотношения на 16–23%.

Список литературы

1. Романовский И. В., Болтромеюк В. В., Гидранович Л. Г., Ринейская О. Н. Биоорганическая химия : учебник. Минск : Новое знание ; М. : ИНФРА-М, 2015. 504 с.
2. Bystrov N. S., Chernov B. K., Dobrynnin V. N., Kolosov M. N. The structure of hyperforin // Tetrahedron Letters. 1975. Vol. 16, № 32. P. 2791–2794.
3. Spessard S. J., Stoltz B. M. Progress toward the synthesis of garsubellin A and related phloroglucins : the direct diastereoselective synthesis of the bicyclo3.3.1.nonane core // Organic letters, 2002. Vol. 4, № 11. P. 1943–1946. DOI: 10.1021/015020043
4. Kraus G. A., Hon Y. S., Sy J. Synthesis of bicyclic 3.2.1.octanes by ring contraction // The Journal of Organic Chemistry. 1986. Vol. 51. P. 2625–2627.
5. Brondz I., Greibrokk T., Groth P. A., Aasen A. J. The relative stereochemistry of hyperforin—an antibiotic from *Hypericum perforatum* L. // Tetrahedron Letters. 1982. Vol. 23, № 12. P. 1299–1300.
6. Колеватова Я. Г., Меньшикова М. А., Пчелиццева Н. В. 2,4-Диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-оны: синтез, строение, свойства // Карбонильные соединения в синтезе гетероциклов : сб. науч. тр. Саратов : Научная книга, 2008. С. 128–130.
7. Садым А. В., Лагунин А. А., Филимонов Д. А., Поройков В. В. Интернет-система прогноза спектра биологической активности химических соединений // Хим.-фарм. журн. 2002. Т. 36, № 10. С. 21–26.
8. Poroikov V. V., Filimonov D. A., Borodina Yu. V., Lagunin A. A., Kos A. Robustness of biological activity spectra predicting by computer program PASS for non-congeneric sets of chemical compounds // J. of Chem. Inform. and Computer Sci. 2000. Vol. 40, № 6. P. 1349–1355.
9. Коробко В. В., Пчелиццева Н. В., Самсонова Е. А., Баталин С. Д., Лунёва М. А. Влияние N, O, S-содержащих гетероциклических соединений на рост корневой системы проростков *Triticum aestivum* L. // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 1. С. 45–51. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-1-45-51
10. Губина Т. И., Ухова А. А., Исаева С. В., Тумский Р. С., Аниськов А. А., Ключкова И. Н. Определение характера биологического действия новых полигетероциклических соединений на растения и оценка экологической безопасности их применения // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 267–273.



11. Колеватова Я. Г. 2,4-Диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-оны : синтез, строение и некоторые химические превращения : дис. ... канд. хим. наук. Саратов, 2009. 139 с.
12. Жестовская Е. С., Крылатова Я. Г. Синтез 2,4-динитрофенилгидразонов и тиосемикарбазонов 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения : сб. науч. ст. Вып. 14. Саратов, 2012. С. 38–39.
13. Голуб Н. А. Параметры первичной корневой системы озимой пшеницы и возможности их использования в оценке сортов // Физиология продуктивности и устойчивости зерновых культур : сб. науч. тр. Краснодар : КНИИСХ, 1988. С. 42–47.
14. Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Большой практикум по фотосинтезу. М. : ИЦ «Академия», 2003. 256 с.
15. Ткачев В. И., Гуляев Б. И. Реакция растений разных сортов озимой пшеницы на кратковременную почвенную засуху // Физиология и биохимия культурных растений. 2010. Т. 42, № 6. С. 522–529.
16. Коробко В. В., Степанов С. А. Влияние температуры на развитие корневой системы проростков твердой пшеницы // Вопросы биологии, экологии, химии и методики обучения : сб. науч. ст. Вып. 19. Саратов : Изд-во Сарат. ун-та, 2017. С. 3–6.
17. Иванов Л. А., Иванова Л. А., Ронжина Д. А., Юдинна П. К. Изменение содержания хлорофиллов в листьях степных растений вдоль широтного градиента на Южном Урале // Физиология растений. 2013. Т. 60, № 6. С. 812–820.
18. Maslova T. G., Popova I. A. Adaptive properties of the plant pigment systems // *Photosynthetica*. 1993. Vol. 29. P. 195–203.
19. Мокроносов А. Т., Гавриленко В. Ф., Жигалова Т. В. Фотосинтез : Физиолого-экологические и биохимические аспекты. М. : ACADEMIA, 2006. 448 с.
20. Смоликова Г. Н., Ламан Н. А., Борискевич О. В. Роль хлорофиллов и каротиноидов в устойчивости семян к абиотическим стрессорам // Физиология растений. 2011. Т. 58, № 6. С. 817–825.

Образец для цитирования:

Миронова Н. В., Коробко В. В., Пчелинцева Н. В., Крылатова Я. Г., Жестовская Е. С. Фитотестирование (тио)семикарбазонов 2,4-диарилбицикло[3.3.1]нон-2-ен-9-онов // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 305–311. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-305-311>

The Phytotesting of (thio)semicarbazones 2,4-diarylbicyclo[3.3.1]non-2-en-9-ones

N. V. Mironova, V. V. Korobko, N. V. Pchelintseva,
Ya. G. Krylatova, E. S. Zhestovskaya

Natalya V. Mironova, <https://orcid.org/0000-0003-1322-8277>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, mironovanatasha97@mail.ru

Valeria V. Korobko, <https://orcid.org/0000-0002-0444-8238>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, v.v.korobko @ mail.ru

Nina V. Pchelintseva, <https://orcid.org/0000-0002-5830-9807>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, pchelinzevan555@mail.ru

Yana G. Krylatova, <https://orcid.org/0000-0002-9486-6774>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, yana.krylatova@yandex.ru

Elizaveta S. Zhestovskaya, <https://orcid.org/0000-0002-1297-8562>, Research Center "Signal", 8 Bolshaya Olenya St., Moscow 107014, Russia, zhestovskayae@gmail.com

Biological testing of (thio) semicarbazones 2,4-diarylbicyclo [3.3.1] non-2-en-9-ones, differing in the nature of aryl substituents and nucleophile, was carried out. The object of the study was seedlings of spring soft wheat *Triticum aestivum* L. of the Saratovskaya 36 variety. To assess the physiological activity of the tested compounds, we used a valuable analysis of the morphometric parameters of growth of the root system and shoots of the test and control plants and the quantitative content of chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and carotenoids in the first leaf. The study

of the physiological activity of (thio)semicarbazones 2,4-diarylbicyclo [3.3.1] non-2-en-9-ones showed that the test compounds in some concentrations affect the growth of the aerial parts of plants, having a positive effect on the indicator of the root availability. The tests revealed the relationship between shoot growth and the concentration of the tested solutions. It has been established that (thio)semicarbazones 2,4-diarylbicyclo[3.3.1]non-2-en-9-ones at a concentration of 10^{-6} M contribute to an increase in chlorophyll *b* content and a decrease in the ratio of chlorophylls *a* and *b*.

Keywords: carbocyclic compounds, biotesting, *Triticum aestivum* L.

References

1. Romanovskiy I. V., Boltromeyuk V. V., Gidranovich L. G., Rineyskaya O. N. *Bioorganicheskaya khimiya: uchebnik* [Bioorganic chemistry: a textbook]. Minsk, Novoe znanie Publ.; Moscow, INFRA-M Publ., 2015. 504 p. (in Russian).
2. Bystrov N. S., Chernov B. K., Dobrynnin V. N., Kolosov M. N. The structure of hyperforin. *Tetrahedron Letters*, 1975, vol. 16, no. 32, pp. 2791–2794.
3. Spessard S. J., Stoltz B. M. Progress toward the synthesis of garsubellin A and related phloroglucins: the direct diastereoselective synthesis of the bicyclo[3.3.1]nonane core. *Organic Letters*, 2002, vol. 4, no. 11, pp. 1943–1946. DOI: 10.1021/015020043
4. Kraus G. A., Hon Y. S., Sy J. Synthesis of bicyclic 3.2.1. octanes by ring contraction. *The Journal of Organic Chemistry*, 1986, vol. 51, pp. 2625–2627.
5. Brondz I., Greibrokk T., Groth P. A., Aasen A. J. The relative stereochemistry of hyperforin—an antibiotic from *Hypericum perforatum* L. *Tetrahedron Letters*, 1982, vol. 23, no. 12, pp. 1299–1300.



6. Kolevatova Ya. G., Men'shova M. A., Pchelintseva N. V. 2,4-Diarilbiciklo[3.3.1]non-2-en-9-ony: sintez, stroenie, svojstva [2,4-Diarylbicyclo [3.3.1] non-2-en-9-ones: synthesis, structure, properties]. In: *Karbonil'nye soedineniya v sinteze geterotsiklov: sb. nauch. tr.* [Carbonyl compounds in the synthesis of heterocycles. Coll. of Sci. Papers]. Saratov, Nauchnaya kniga Publ., 2008, pp. 128–130 (in Russian).
7. Sadym A. V., Lagunin A. A., Filimonov D. A., Poroykov V. V. Internet system for predicting the spectrum of biological activity of chemical compounds. *Chemical Pharmaceutical Journal*, 2002, vol. 36, no. 10, pp. 21–26 (in Russian). DOI: 10.30906/0023-1134-2002-36-10-21-26
8. Poroikov V. V., Filimonov D. A., Borodina Yu. V., Lagunin A. A., Kos A. Robustness of biological activity spectra predicting by computer program PASS for non-congeneric sets of chemical. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 2000, vol. 40, no. 6, pp. 1349–1355.
9. Korobko V. V., Pchelintseva N. V., Samsonova E. A., Batalin S. D., Lunejva M. A. Effect of N, O, S-containing Heterocyclic Compounds on Growth of Root System of *Triticum aestivum* L. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 1, pp. 45–51 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-1-45-51
10. Gubina T. I., Ukhova A. A., Isaeva S. V., Tumskiy R. S., Anis'kov A. A., Klochkova I. N. The Determination of Biological Effects of New Heterocyclic Compounds on Plants and the Evaluation of Environmental Safety of Their Application. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 267–273 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-267-273
11. Kolevatova Ya. G. 2,4-Diarilbiciklo[3.3.1]non-2-en-9-ony: sintez, stroenie i nekotorye khimicheskie prerashcheniya [2,4-Diarylbicyclo[3.3.1]non-2-en-9-ones: synthesis, structure and some chemical transformations. Dis. Cand. Sci. (Chem.)]. Saratov, 2009. 139 p. (in Russian).
12. Zhestovskaya E. S., Krylatova Ya. G. Sintez 2,4-dinitrofenilgidrazonov i tiosemikarbazonov 2,4-diarilbiciklo[3.3.1]non-2-en-9-onyov [Synthesis of 2,4-dinitrophenylhydrazones and thiosemicarbazones 2,4-diarylbicyclo [3.3.1] non-2-en-9-ones]. *Voprosy biologii, ekologii, himii i metodiki obucheniya: sb. nauch. st.* [Questions of Biology, Ecology, Chemistry and Teaching Methods: Coll. of Sci. Articles]. Saratov, Izd-vo Sarat. un-ta, 2017, iss. 19, pp. 3–6 (in Russian).
13. Golub N. A. Parametry pervichnoy kornevoy sistemy ozimoy pshenitsy i vozmozhnosti ikh ispol'zovaniya v otsenke sortov [Parameters of the primary root system of winter wheat and the possibility of their use in the evaluation of varieties]. In: *Fiziologiya produktivnosti i ustoichivosti zernovykh kul'tur: sb. nauch. tr.* [Physiology of productivity and stability of grain crops: coll. of proc.]. Krasnodar, KNIICH Publ., 1988, pp. 42–47 (in Russian).
14. Gavrilenko V. F., Zhigalova T. V. *Bol'shoy praktikum po fotosintezu* [Great Photosynthesis Workshop]. Moscow, "Akademiya" Publ., 2003. 256 p. (in Russian).
15. Tkachev V. I., Gulyaev B. I. Response of plants of different winter wheat varieties to a brief soil drought. *Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants*, 2010, vol. 42, no. 6, pp. 522–529 (in Russian).
16. Korobko V. V., Stepanov S. A. Vliyanie temperatury na razvitiye kornevoy sistemy prorostkov tvyordoy pshenitsy [The effect of temperature on the development of the root system of durum wheat seedlings]. *Voprosy biologii, ekologii, himii i metodiki obucheniya: sb. nauch. st.* [Questions of Biology, Ecology, Chemistry and Teaching Methods: Coll. of Sci. Articles]. Saratov, Izd-vo Sarat. un-ta, 2017, iss. 19, pp. 3–6 (in Russian).
17. Ivanov L. A., Ivanova L. A., Ronzhina D. A., Yudina P. K. Changes in the chlorophyll and carotenoid contents in the leaves of steppe plants along a latitudinal gradient in South Ural. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2013, vol. 60, no. 6, pp. 812–820 (in Russian). DOI: 10.7868/S0015330313050072
18. Maslova T. G., Popova I. A. Adaptive properties of the plant pigment systems. *Photosynthetica*, 1993, vol. 29, pp. 195–203.
19. Mokronosov A. T., Gavrilenko V. F., Zhigalova T. V. *Fotosintez: Fiziologo-ekologicheskie i biohimicheskie aspekty* [Photosynthesis: Physiological, Environmental and Biochemical Aspects]. Moscow, "Academiya" Publ., 2006. 448 p. (in Russian).
20. Smolikova G. N., Laman N. A., Boriskevich O. V. The role of chlorophylls and carotenoids in seed resistance to abiotic stressors. *Russian Journal of Plant*, 2011, vol. 58, no. 6, pp. 817–825 (in Russian).

Cite this article as:

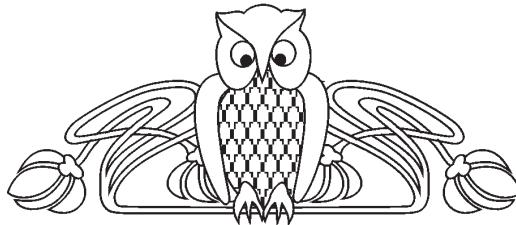
Mironova N. V., Korobko V. V., Pchelintseva N. V., Krylatova Ya. G., Zhestovskaya E. S. The Phytotesting of (thio)semicarbazones 2,4-diarylbicyclo[3.3.1]non-2-en-9-ones. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 305–311 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-305-311>



УДК 612.42

Изменения проницаемости гематоэнцефалического барьера под воздействием громкого звука

А. Е. Шариф, А. С. Абдурашитов, А. А. Намыкин, А. А. Широков, Е. Ю. Лыкова, Е. И. Саранцева, Т. Д. Искра, Е. Л. Водовозова, А. С. Хороводов, А. В. Терсков, А. Т. Мамедова, И. М. Агранович, М. М. Климова, О. В. Семячкина-Глушковская



Шариф Али Есмат, аспирант биологического факультета, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, esmtshareef@yahoo.co.uk

Абдурашитов Аркадий Сергеевич, аспирант физического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, abdurashitof-optics@mail.ru

Намыкин Антон Александрович, аспирант физического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, anton-namikin@bk.ru

Широков Александр Александрович, руководитель центра коллективного пользования (ЦКП) «Симбиоз» ИБФРМ РАН, кандидат биологических наук, Институт биохимии, физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, shirokov_a@ibppm.ru

Лыкова Екатерина Юрьевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, eckaterina_lykova@mail.ru

Саранцева Елена Ивановна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, Саратовский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, sophora68@mail.ru

Искра Татьяна Дмитриевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, доцент кафедры физиологии человека и животных, Саратовский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, tata-isk@yandex.ru

Водовозова Елена Львовна, доктор химических наук, руководитель лаборатории химии липидов, Институт биоорганической химии имени академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, elvod@lipids.ibch.ru

Хороводов Александр Петрович, магистрант биологического факультета, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, khorovodov2012@yandex.ru

Терсков Андрей Витальевич, магистрант биологического факультета, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, terskow.andrey@gmail.com

Мамедова Айсель Тофик кызы, магистрант биологического факультета, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, mamedovaysel95@gmail.com

Агранович Илана Михайловна, аспирант биологического факультета, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, ilana.agranovich@yandex.ru

Климова Мария Максимовна, студент биологического факультета, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, mari-1997@mail.ru

Семячкина-Глушковская Оксана Валерьевна, доктор биологических наук, заведующий кафедрой физиологии человека и животных, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, glushkovskaya@mail.ru

В данной статье впервые рассматривается возможность применения громкого прерывистого звука (100 дБ, 370 Гц, 60 с – звук и 60 с – пауза в течение 2 ч) в качестве неинвазивного метода открытия гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Результаты исследований, выполненных на половозрелых самцах мышей с применением *ex vivo* (спектрофлуориметрический метод определения экстравазации красителя Evans Blue и конфокальный анализ проницаемости ГЭБ для FITC-декстрана 70 кДа) и *in vivo* (двуфотонная микроскопия прохождения липосом через ГЭБ) опытов, демонстрируют, что звук значительно увеличивает проницаемость ГЭБ для указанных маркеров. Индуцированное звуком открытие ГЭБ является безопасным (по оценке отсутствия периваскулярного отека и апоптоза) и обратимым (открытие/закрытие ГЭБ через 1 ч/4 ч после воздействия звука соответственно), сопровождаемым компенсаторными изменениями церебрального кровотока. Таким образом, звук как естественный фактор может явиться новым и прогрессивным методом для успешной доставки лекарств в мозг, который может быть применен в повседневной клинической практике. Его экономическая выгода и простота выполнения делает данный метод двигателем прогресса в области преодоления ГЭБ и лечения болезней центральной нервной системы (ЦНС).

Ключевые слова: звук, гематоэнцефалический барьер, FITC-декстрон 70 кДа, GM1-липосомы, Evans Blue dye.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-312-321>



Введение

Гематоэнцефалический барьер является совокупностью морфологических структур, образованной эндотелиальными клетками микрососудов, окруженными перицитами и периваскулярной астроглией. Он контролирует прохождение переносимых кровью агентов в ткани мозга или вы свобождение метаболитов и ионов из него. ГЭБ играет жизненно важную роль в нормальном функционировании ЦНС, защищая мозг от патогенов. Однако это также создает серьезную помеху для введения лекарств в ткани мозга при лечении его заболеваний.

Известно, что среди 7000 зарегистрированных в мировой статистической базе лекарственных средств только 5% позволяют успешно лечить неврологические заболевания по причине того, что многие из них не могут проходить через ГЭБ [1–3]. В этой связи подходы к преодолению ГЭБ привлекают внимание в исследованиях последних четырех десятилетий.

Период 1880–1980 гг. был посвящен изучению анатомической структуры и функций ГЭБ. В последующие три десятилетия исследовали механизмы, лежащие в основе работы ГЭБ. Сегодня внимание ученых сфокусировано на развитии методов преодоления ГЭБ. Так, предложено более 70 различных методов доставки лекарственных средств в ткани мозга, включая физические, химические и биологические [4–6]. Однако все эти методы требуют дальнейших исследований для улучшения воспроизводимости, а также количественной и качественной оценки проницаемости ГЭБ.

Материалы и методы

Объекты исследования

Во всех экспериментах использовали самцов белых беспородных мышей (с массой тела 20–25 г) в количестве 140 шт. Животные содержались в стандартных лабораторных условиях с доступом к пище и воде. Протокол эксперимента был одобрен комитетом по уходу и использованию лабораторных животных в Саратовском государственном университете (протокол Н-147, 07.02.2018).

В серии экспериментов было изучено влияние громкого звука (100 дБ 370 Гц продолжительностью 2 ч) на открытие ГЭБ для молекул с высоким весом, таких как *Evans Blue Albumin Complex* (EBAC, 68,5 кДа) и FITC-декстрран (70 кДа), вводимых внутривенно в экспериментах *ex vivo* и *in vivo*.

Оценка экстравазации *Evans Blue dye* с помощью спектрофлуорометрического анализа. На первом этапе эксперимента мы проанализировали экстравазацию EBAC с помощью спектрофлуориметрического анализа. Для этого были

сформированы 4 группы экспериментальных животных: контрольная ($n = 15$), которая не подвергалась звуковой стимуляции, и три опытные группы, животные в которых подвергались звуковому воздействию ($n = 15$ в каждой). Громкий звук экспонировался в течение 2 ч в прерывистом режиме: 60 с – звук и 60 с – пауза. Время и доза воздействия звука были установлены случайным экспериментальным отбором значительной проницаемости ГЭБ для EBAC. Данная процедура проводилась с помощью звукового преобразователя (7а, 12 вольт, ПАО «АвтоВАЗ», Тольятти, Россия). Определение концентрации красителя *Evans Blue* в тканях мозга проводили на спектрофлуориметре (620 nm/680 nm, Agilent Cary Eclipse, Agilent, USA).

Мыши помещались на нагревательную платформу для поддержания температуры тела на всех этапах экспериментов. Имплантация полиэтиленового катетера (PE-10 tip, Scientific Commodities Inc., Lake Havasu City, Arizona) проводилась под ингаляционной анестезией (2% изофлуран, 1 л/мин N_2O/O_2 – 70 : 30) в правую бедренную вену. EBAC (Sigma Chemical Co. Сент-Луис, штат Мичиган, США) вводили внутривенно в разовой дозе (2 мг/25 г, мышь, 1% раствор в 0,9% физиологическом растворе). EBd циркулировал в крови в течение 30 мин в соответствии с рекомендуемым протоколом [7].

В завершение мышей декапитировали с последующим извлечением мозга – через 1 ч ($n = 15$), через 4 ч ($n = 15$) и через 24 ч ($n = 15$) после эксперимента. Мозг быстро извлекали и помещали на лед (антикоагуляция не использовалась во время сбора крови). Подробный протокол извлечения и визуализации EBAC был опубликован Wang et al. [8]. Для измерения концентрации EBAC (мкг на г тканей) использовалась стандартная калибровочная кривая.

Оценка экстравазации FITC-декстрана 70 кДа с помощью конфокальной микроскопии. Следующим этапом экспериментов был анализ экстравазации FITC-декстрана 70 кДа с помощью конфокальной микроскопии. Для характеристики проницаемости ГЭБ к молекулам с высокой молекулярной массой использовался флуоресцеин изотиоцианат (FITC)-декстрран 70 кДа. Для данного опыта были сформированы четыре группы мышей ($n = 10$ в каждой группе). В контрольной группе животные не подвергались звуковому воздействию. Остальные три группы находились под воздействием громкого звука. Через 1, 4 и 24 ч после эксперимента животным внутривенно вводили FITC-декстрран (1 мг/25 г мыши, 0,5% раствор в 0,9% физиологическом растворе, Sigma-Aldrich), который циркулировал 2 мин. Сразу после этого животных декапитировали. Мозг быстро удаля-



ли, фиксировали его в 4% параформальдегиде в течение 24 ч и далее делали срезы толщиной 60 мкм на вибротоме (Микросистема Leica VT 1000S, Германия). Анализ результатов проводили на конфокальном микроскопе (Olympus FV10i-W, Olympus, Япония). На каждое животное было сделано 8–12 срезов из корковых и подкорковых областей.

Дополнительным методом оценки проницаемости ГЭБ послужила *двухфотонная лазерная сканирующая микроскопия (2ФЛСМ) в режиме реального времени*. Проницаемость ГЭБ непрерывно контролировалась путем измерения флуоресценции периваскулярной ткани мышей в разные моменты времени. За три дня до визуализации готовили оптическое окно (3 мм) путем истончения черепа.

Во время визуализации мыши находились под ингаляционной анестезией с 2% изофлураном при 1 л/мин $N_2O/O_2 = 70 : 30$. Температура тела поддерживалась на уровне 37,5° С с помощью гомеотермической системы с ректальным зондом. FITC-декстрран 70 кДа (1 мг/25 г мыши, 0,5% раствор в 0,9% физиологическом растворе, Sigma-Aldrich) вводили через хвостовую вену (~ 100 мкл) при начальной концентрации в сыворотке крови 150 мкМ. Анализ проницаемости ГЭБ проводили сразу и в течение 20 мин после введения FITC-декстрана.

Обработка изображений с использованием системы Prairie View Ultima. Для количественной оценки экстравазации FITC-декстрапана из церебральных сосудов в ткани мозга применяли систему Prairie View Ultima, а также программу Image J.

Метод изучения проницаемости ГЭБ с помощью флуоресцентных GM1-липосом.

В состав липосом входит ганглиозид GM1, полученный из головного мозга крупного рогатого скота. Очищенный ганглиозид GM1 из головного мозга был любезно предоставлен доктором Ильей Михалёвым (Институт биоорганической химии им. Шемякина – Овчинникова РАН). Высокоэффективный флуоресцентный зонд ($\lambda_{ex} = 497$ нм, $\lambda_{em} = 504$ нм), синтезированный, как описано ранее [9], любезно предоставлен доктором Иваном Болдыревым (Институт биоорганической химии им. Шемякина – Овчинникова РАН). Липосомы получали стандартным методом экструзии после гидратации липидной пленки [10]. После экструзии через мембранные фильтры с диаметром пор 100 нм (Extruder Lipex, Northern Lipids, Canada) липосомные дисперсии помещали в физиологический солевой раствор (фосфатный буфер, pH 7,1, всего концентрация липидов 25 мМ). Измеренный методом динамического рассеяния света (BI9000, Brookhaven

Instruments, США) средний диаметр и индекс полидисперсности для липосом составляли 104 и 0,076 нм соответственно.

Для получения флуоресцентного сигнала в липосомы был встроен 1 моль BODIPY-фосфатидилхолина. Флуоресцентно меченные липосомы в физиологическом растворе (0,2 мл/25 г) вводили мышам через хвостовую вену в следующих группах: первая контрольная группа ($n = 10$ в каждой группе) без звукового воздействия; вторая, третья и четвертая – экспериментальные группы, находившиеся под воздействием звука.

Липосомы вводили внутривенно (0,2 мл/100 г) и давали циркулировать в течение 2 мин. После этого мышей декапитировали и анализировали срезы мозга на конфокальном микроскопе. Чтобы исследовать проницаемость ГЭБ для липосом, применялись три различных маркера, которые наносились на срезы мозга: 1) антиген эндотелиального барьера, конъюгированный с антителами SMI-71, в качестве маркера цереброваскулярного эндотелия; 2) антиглиальный фибрillлярный кислый белок (GFAP), метящий астроциты; 3) ламинин, маркирующий базальные мембранны. Экстравазация липосом оценивалась через 1, 4 и 24 ч после воздействия звука.

Результаты и их обсуждение

Ex vivo анализ проницаемости ГЭБ для высокомолекулярных соединений

На первом этапе исследований изучали проницаемость ГЭБ для EBAC. EBAC является классическим инертным индикатором проницаемости сосудов для молекул с высокой молекулярной массой. EBAC – неметаболически активная краска (961 Да), которая прочно связывается с альбумином сыворотки, формируя высокомолекулярный комплекс массой 68,5 кДа [11–13]. Таким образом, EBd не проникает через интактный ГЭБ, а его появление в тканях мозга указывает на нарушение ГЭБ [14, 15]. Мы обнаружили, что продолжительность звука (100 и 90 дБ) в течение 2 ч сопровождалась значительным увеличением утечки EBAC, в то время как меньшее время воздействия звука (0,5 ч и 1 ч) не было связано с какими-либо изменениями в проницаемости ГЭБ для EBAC.

Экстравазацию EBAC из церебральных сосудов в ткани мозга определяли после его внутривенного введения мышам до и после звукового воздействия. Данные спектрофлуориметрического анализа показали (рис. 1), что концентрация EBAC в интактном мозге была близка к нулю ($0,42 \pm 0,02$ мкг/г ткани). Это минимальное количество красителя в интактном мозге можно объяснить небольшим содержанием красителя, который может оставаться на стенках сосудов головного мозга после процедуры перфузии [8, 16].

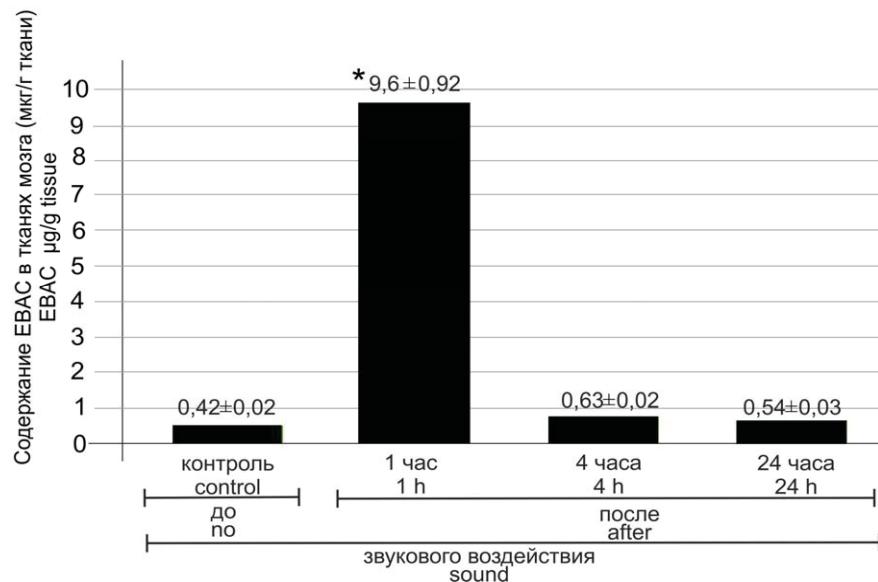


Рис. 1. Данные спектрофлуориметрического анализа проницаемости ГЭБ для альбуминового комплекса Evans Blue (EBAC)

Fig. 1. Data spectrofluorimetric analysis for permeability of the BBB for the albumin complex Evans Blue (EBAC)

Прохождение EBd существенно возрастало у каждого животного после воздействия звуком (см. рис. 1). Так, через 1 ч после звуковой стимуляции наблюдалось 22,8-кратное увеличение прохождения EBAC ($9,6 \pm 0,92$ мкг/г ткани против $0,42 \pm 0,02$ мкг/г ткани, $p < 0,05$). Важно отметить, что через 4 и 24 ч после звукового воздействия проницаемость ГЭБ для EBAC полностью нормализовалась, а экстравазация красителя в мозге была аналогична нормальному состоянию ($0,63 \pm 0,02$ и $0,54 \pm 0,03$ мкг/г соответственно).

С целью оценки проницаемости ГЭБ для веществ с высокой молекулярной массой было дополнительно использовано внутривенное введение (FITC)-декстрана 70 кДа. Короткое

время циркуляции (2 мин) было выбрано для (FITC)-декстрана потому, что этот индикатор выводится из крови быстрее, чем EBAC. Это также стало причиной выбора высокомолекулярного (FITC)-декстрана 70 кДа, поскольку декстран с молекулярной массой < 50 кДа быстро выводится почками [7].

Конфокальный анализ экстравазации (FITC)-декстрана подтвердил данные спектрофлуориметрического анализа проницаемости ГЭБ для EBAC, а именно тот факт, что ГЭБ открывается через 1 ч и закрывается через 4 ч после звукового воздействия. Экстравазация (FITC)-декстрана определялась как четкая флуоресценция, видимая вокруг стенок сосуда (рис. 2, б). В конт-

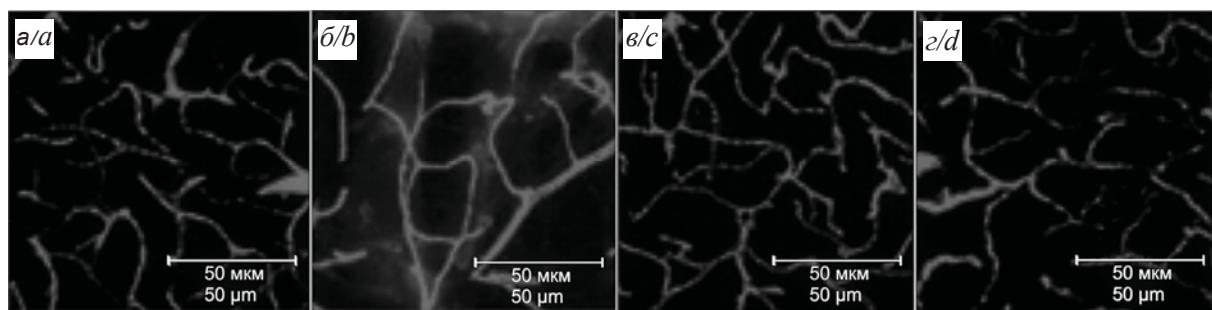


Рис. 2. Данные конфокальной микроскопии проницаемости ГЭБ к (FITC)-декстрану 70 кДа: а – контроль (декстран внутри сосудов мозга), б – экстравазация декстрана из крови в ткани мозга (определен по появлению вокруг церебральных сосудов флуоресценции); в и г – 4 и 24 ч после воздействия звуком, (FITC)-декстран внутри церебральных сосудов, в этот период ГЭБ закрыт

Fig. 2. Data confocal microscopy of BBB permeability to FITC-dextran 70 kDa: a – control (dextran inside brain vessels), b – extravasation of dextran from the blood into the brain tissue (determined by fluorescence around cerebral vessels); c and d – 4 and 24 hours after sound exposure to, FITC-dextran inside the cerebral vessels, during this period the BBB is closed

рольной группе (без звука), а также через 4 и 24 ч после воздействия звука не наблюдалось экстравазации (FITC)-декстрана, т. е. целостность ГЭБ быстро восстанавливалась после звукового воздействия (рис. 2, *a*, *b*, *e*).

Данные 2ФЛСМ сочетались с результатами конфокальной микроскопии (рис. 3). Так,

2ФЛСМ показала открытие ГЭБ через 1 ч после звуковой стимуляции и нормализацию проницаемости ГЭБ для этого индикатора через 4 и 24 ч после звукового воздействия.

Как показано на рис. 3, *a* и *b*, в контрольной группе после внутривенного введения индикатора на темном фоне ткани мозга отчетливо видны

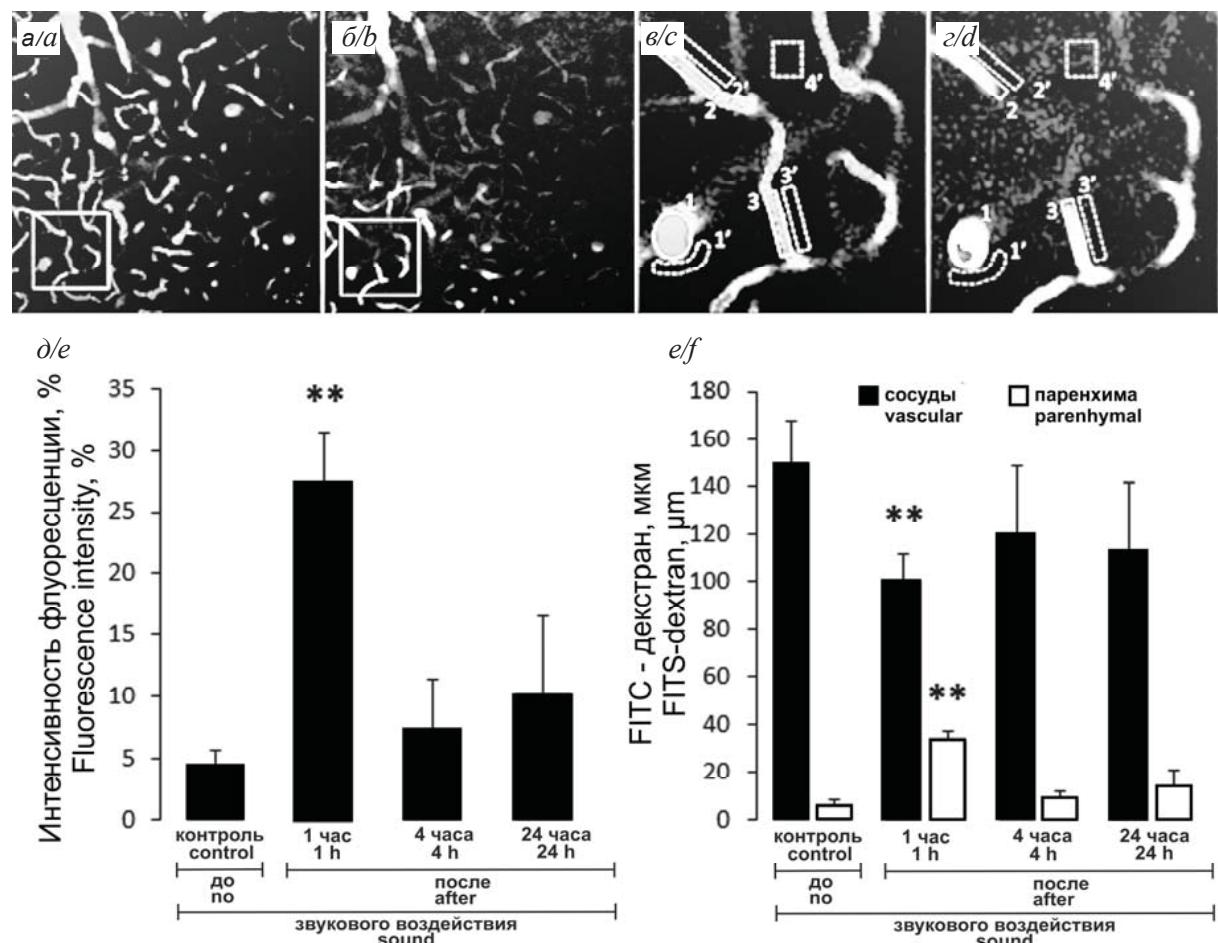


Рис. 3. Данные двухфотонной лазерной сканирующей микроскопии проницаемости ГЭБ к (FITC)-декстрану 70 кДа: *a* – микрофотографии подкорковой структуры головного мозга мыши через 1 ч после воздействия звука сразу после введения (FITC)-декстрану 70 кДа; *b* – та же область через 20 мин после инъекции (FITC)-декстрану 70 кДа; *c* – кортикальная область при большем увеличении от (*a*), изображающая количественную оценку микрососудистой проницаемости для FITC-декстрану 70 кДа. Площадь кровеносных сосудов (1–3) и интерстициальное пространство (1'–4') определяли вручную, а интенсивность флуоресценции в каждой области оценивали с использованием программного обеспечения Image J; *d* – та же площадь при большем увеличении от (*b*); *e* – процентная интенсивность флуоресценции (рассчитанная от сосудистой) в периваскулярной области, отражающая максимальную концентрацию (FITC)-декстрану 70 кДа через 1 ч после воздействия звука. Данные представлены в виде среднего \pm SEM, $n = 7$, ** $p < 0,01$; *f* – оценка концентрации FITC-декстрана в паренхиме головного мозга и микрососудах через 20 мин после инъекции. Данные представлены в виде среднего \pm SEM, $n = 7$, ** $p < 0,01$

Fig. 3. Data of two-photon laser scanning microscopy of BBB permeability to (FITC)-dextran 70 kDa: *a* – micrographs of the subcortical structure of the mouse brain 1 hour after sound exposure immediately after the injection of (FITC)-dextran 70 kDa, *b* – the same area 20 minutes after injection (FITC)-dextran 70 kDa; *c* – cortical area with a higher magnification from (*a*), representing the quantitative assessment of microvascular permeability for (FITC)-dextran 70 kDa. The area of blood vessels (1–3) and the interstitial space (1'–4') were determined manually, and the fluorescence intensity in each area was estimated using the Image J software; *d* – the same area with a larger increase from (*c*); *e* – percentage fluorescence intensity (calculated from the vascular) in the perivascular region, reflecting the maximum concentration of (FITC)-dextran 70 kDa 1 h after sound exposure. Data are presented as mean \pm SEM, $n = 7$, ** $p < 0.01$; *f* – evaluation of the concentration of FITC-dextran in the brain parenchyma and microvessels 20 minutes after injection. Data are presented as mean \pm SEM, $n = 7$, ** $p < 0.01$



яркие сосуды, заполненные (FITC)-декстраном 70 кДа. Через 1 ч в той же области мозга наблюдалась повышенная периваскулярная флуоресценция ткани из-за прохождения (FITC)-декстрана 70 кДа из микрососудов в паренхиму мозга, указывающего на открытие ГЭБ (см. рис. 3, б и г). Количественная оценка сосудистой проницаемости через 20 мин после инъекции (FITC)-декстрана, представленная на рис. 3, д, показывает увеличение ее до $27,2 \pm 4,2\%$ через 1 ч ($p < 0,01$), $7,3 \pm 4\%$ через 4 ч ($p = 0,12$) и $10,1 \pm 6,4\%$ через 24 ч ($p = 0,08$) после звукового воздействия по сравнению с интактным мозгом ($4,4 \pm 1,2\%$). Концентрация (FITC)-декстрана в паренхиме мозга через 1 ч после звукового воздействия существенно увеличилась и составила $33,7 \pm 3$ мкм и уменьшилась до $100,6 \pm 10,9$ мкм в сосудах ($p < 0,01$ для обоих случаев) по сравнению с неповрежденным мозгом, где расчетные концентрации составили $5,2 \pm 2,8$ мкм и $149,8 \pm 17,1$ мкм в паренхиме и сосудистой сети соответственно (см. рис. 3, е). Таким образом, 2ФЛСМ показала, что ГЭБ обратимо открывается через 1 ч после звукового воздействия, закрывается через 4 ч, с сохранением нормальной барьевой функции через 24 ч после звука.

В целом результаты трех серий экспериментов первого этапа с применением *ex vivo* и *in vivo* оценки проницаемости ГЭБ к комплексу ЕВ-альбумина (68 кДа) и (FITC)-декстрану (70 кДа) показали, что звук индуцирует значительное, но обратимое открытие ГЭБ через 1 ч для высокомолекулярных веществ, имитирующих высокую проницаемость барьера к белкам.

Проницаемость ГЭБ к липосомам

Результаты анализа проницаемости ГЭБ к GM1-липосомам с помощью конфокальной микроскопии (*ex vivo*) представлены на рис. 4. Экстравазацию GM1-липосом из сосудов головного мозга в паренхиму изучали с применением трех разных маркеров: 1) антигена эндотелиального барьера, конъюгированного с антителами SMI-71, в качестве маркера цереброваскулярного эндотелия; 2) антиглиального фибриллярного кислого белка (GFAP), метящего астроциты; 3) ламинина, маркирующего базальные мембранны.

Максимальная концентрация липосом в тканях головного мозга наблюдалась через 1 ч после звукового воздействия (см. рис. 4), до звукового воздействия, а также после 4 и 24 ч. После 24 ч экстравазация GM1-липосом не наблюдалось.

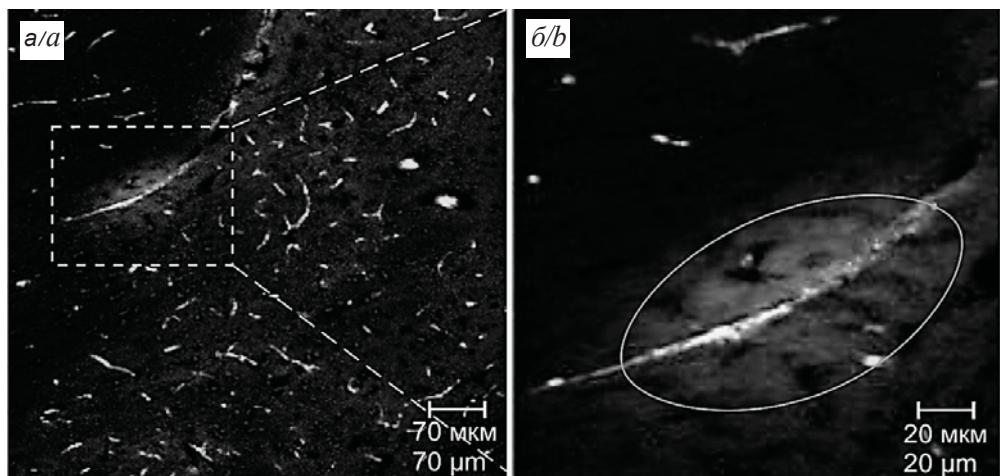


Рис. 4. Конфокальная микроскопия проницаемости ГЭБ для GM1-липосом 100 нм у мышей, подвергнутых звуковому воздействию с применением маркера эндотелия церебральных сосудов SMI-71 и GFAP: через 1 ч после звука. Слева на малом и справа – на большом увеличении

Fig. 4. Confocal microscopy of BBB permeability for GM1-liposomes 100 nm in mice subjected to sound using the endothelial marker of cerebral vessels SMI-71 and GFAP: 1 hour after the sound. Left on low and on the right – at high magnification

Через 1 ч после воздействия звука липосомы наблюдали вне эндотелиальных клеток и между астроцитами, помеченными SMI-71 и GFAP соответственно, но не было экстравазации липосом до, а также через 4 и 24 ч после воздействия звука. Результаты двухфотонной микроскопии

in vivo подтвердили данные о прохождении липосом конфокальной *ex vivo*. Открытие ГЭБ наблюдалось только через 1 ч после стимуляции звуком (рис. 5, б).

Как показано на рис. 5, а, через 1 ч после звукового воздействия сразу после внутривенного

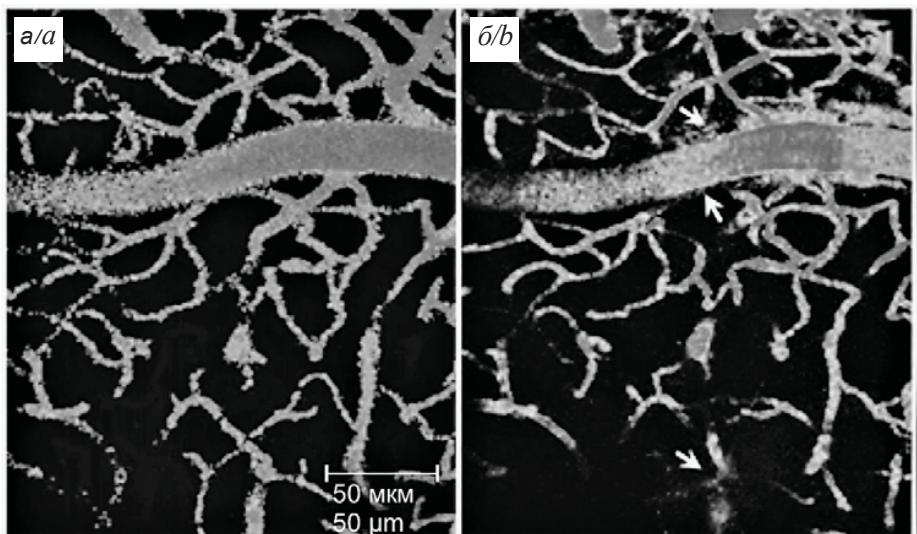


Рис. 5. *In vivo* двухфотонная лазерная сканирующая микроскопия проницаемости ГЭБ для GM1-липосом у мышей, подвергнутых звуковому воздействию: *а* – GM1-липосомы внутри сосудов мозга в момент их введения в кровь; *б* – экстравазация GM1-липосом из крови в ткани мозга, что оценивалось по появлению флуоресцентного сигнала от GM1-липосом в тканях мозга

Fig. 5. *In vivo* two-photon laser scanning microscopy of BBB permeability for GM1-liposomes in mice subjected to sound: *a* – GM1-liposomes inside the brain vessels at the first moment of their injection in blood; *b* – extravasation of GM1-liposomes from the blood into brain tissue, which was estimated by the appearance fluorescent signal GM1-liposomes in the brain tissues

введения липосом на темном фоне ткани мозга отчетливо видны яркие сосуды, заполненные флуоресцентными липосомами. Через 20 мин наблюдения регистрировали выход GM1-липосом из микрососудов в паренхиму мозга, что определяли по появлению флуоресцентного сигнала от GM1-липосом вокруг сосудов, указывающего на открытие барьера (см. рис. 5, *б*). В неповрежденном мозге экстравазации не наблюдалось.

На рис. 6 показано увеличение флуоресценции периваскулярной паренхимы до $15,9 \pm 5,2\%$ через 1 ч ($p < 0,01$), $3,4 \pm 2,8\%$ через 4 ч и $5,4 \pm 4,1\%$ через 24 ч после звукового воздействия по сравнению с интактным мозгом ($2,2 \pm 1,3\%$). Таким образом, данные двухфотонной микроскопии *in vivo* подтвердили, что ГЭБ обратимо открывается через 1 ч после звукового воздействия, закрывается через 4 ч и незначительно открывается снова через 24 ч.

Таким образом, результаты, полученные *ex vivo* и *in vivo*, предполагают, что GM1-липосомы диаметром 100 нм пересекают ГЭБ через 1 ч после звукового воздействия, что также было показано в других исследованиях, использующих внутриартериальную инъекцию GM1-липосом (100 нм) [16].

Следовательно, применение конфокальной (*ex vivo*) и двухфотонной (*in vivo*) микроскопии

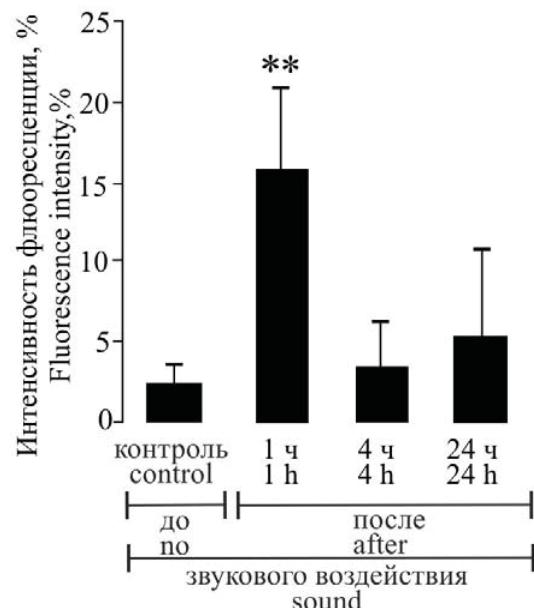


Рис. 6. Количественная оценка экстравазации GM1-липосом

Fig. 6. Quantification extravasation of GM1-liposomes

показало эффективность использования звукового воздействия для обратимого повышения проницаемости ГЭБ к GM1-липосомам. Периваскулярный отек во всех сериях экспериментов не наблюдался.



Заключение

В данной работе, выполненной на здоровых самцах крыс, впервые показано, что применение слышимого прерывистого звука (100 дБ, 370 Гц, продолжительностью 2 ч) приводит к обратимому повышению проницаемости ГЭБ к высокомолекулярным соединениям, таким как ЕВАС (68,5 кДа), (FITC)-декстран (70 кДа) и флуоресцентным GM1-липосомам через 1 ч после воздействия с последующим быстрым (через 4 ч) восстановлением барьера функции мозга. Звук как естественный фактор может явиться новым прогрессивным методом для успешной доставки лекарств в мозг. Этот метод может быть применен в повседневной клинической практике.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 17-15-01263).

Список литературы

1. *Pardridge W.M.* Blood-brain barrier delivery // *Drug Discov Today.* 2007. Vol. 12. P. 54–61.
2. *Pardridge W. M.* Brain drug targeting : the future of brain drug development. Cambridge : Cambridge University Press, 2001. 111 p.
3. *Ghose A. K., Viswanadhan V. N., Wendoloski J. J.* A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases // *J. Comb Chem.* 1999. Vol. 1. P. 55–68.
4. *Hammarlund-Udenaes M., Lange E. de, Thorne R. G.* Drug Delivery to the Brain : Physiological Concepts, Methodologies and Approaches. N.Y. : Springer; L. : Heiderberg Dordrecht, 2014. 658 p.
5. *Mitragotri S.* Devices for overcoming biological barriers : The use of physical forces to disrupt the barriers // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2013. 65. P. 100–103.
6. *Pandey P. K., Sharma A. K., Gupta U.* Blood brain barrier : An overview on strategies in drug delivery, realistic in vitro modeling and in vivo live tracking // *Published in Tissue Barriers.* 2016. DOI: 10.1080/21688370.2015.1129476
7. *Hoffmann A.* High and low molecular weight fluorescein isothiocyanate (FITC)-dextran to assess blood-brain barrier disruption: technical consideration // *Transl Stroke Res.* 2011. Vol. 2, iss. 1. P. 106–111.
8. *Wang H.-L., Lai T. W.* Optimization of Evans blue quantitation in limited rat tissue samples // *Sci. Rep.* Vol. 4. P. 6588. Published online 2014 Oct. 10. DOI: 10.1038/srep06588
9. *Boldyrev I. A., Zhai X., Momsen M. M., Brockman H. L., Brown R. E., Molotkovsky J. G.* New BODIPY lipid probes for fluorescence studies of membranes // *J. Lipid Res.* 2007. Vol. 48. P. 1518–1532.
10. *Olson F., Hunt C. A., Szoka F. C., Vail W. J., Papahadjo-poulos D.* Preparation of liposomes of defined size distribution by extrusion through polycarbonate membranes // *Biochim. Biophys. Acta.* 1979. Vol. 557. P. 9–23.
11. *Rawson R. A.* The binding of T-1824 and structurally related diazo dyes by the plasma proteins // *Am. J. Physiol.* 1943. Vol. 138. P. 708–717.
12. *Gregersen M. I., Gibson J. J., Stead E. A.* Plasma volume determination with dyes: errors in colorimetry; use of the blue dye T-1824 // *Am. J. Physiol.* 1935. Vol. 113. P. 54–55.
13. *Belyaev L., Busto R., Zhao W., Ginsberg M. D.* Quantitative evaluation of blood-brain barrier permeability following middle cerebral artery occlusion in rats // *Brain Res.* 1996. Vol. 739. P. 88–96.
14. *Chen K. B.* Increase in Evans blue dye extravasation into the brain in the late developmental stage // *Neuroreport.* 2012. Vol. 23. P. 699–701.
15. *Saria A., Lundberg J. M.* Evans blue fluorescence: quantitative and morphological evaluation of vascular permeability in animal tissues // *J. Neurosci. Methods.* 1983. Vol. 8. P. 41–49.
16. *Mora M.* Design and characterization of liposomes containing long-chain N-AcylPES for brain delivery: penetration of liposomes incorporating GM1 into the rat brain // *Pharm. Res.* 2002. Vol. 19, iss. 10. P. 1430–1438.

Образец для цитирования:

Шариф А. Е., Абдурашитов А. С., Намыкин А. А., Широков А. А., Лыкова Е. Ю., Саранцева Е. И., Искра Т. Д., Водовозова Е. Л., Хороводов А. С., Терсков А. В., Мамедова А. Т., Агранович И. М., Климова М. М., Семячкина-Глушковская О. В. Изменение проницаемости гематоэнцефалического барьера под воздействием громкого звука // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 312–321. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-312-321>

Changes in Blood-Brain Barrier Permeability under the Influence of Loud Sound

А. Е. Sharif, А. С. Abdurashitov, А. А. Namykin, А. А. Shirokov, Е. Yu. Lykova, Е. I. Sarantseva, Т. D. Iskra, Е. L. Vodovozova, А. P. Khorovodov, А. V. Terskov, А. Т. Mamedova, I. M. Agranovich, М. М. Klimova, О. В. Semyachkina-Glushkovskaya

Sharif Ali Esmat, <https://orcid.org/0000-0002-0500-1390>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, esmtshareef@yahoo.co.uk

Arkady S. Abdurashitov, <https://orcid.org/0000-0003-0731-8364>, Saratov State University, Institute of Optics and Biophotonics, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, abdurashitof-optics@mail.ru

Anton A. Namykin, <https://orcid.org/0000-0002-9945-8542>, Saratov State University, Institute of Optics and Biophotonics, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, anton-namkin@bk.ru

Alexander A. Shirokov, <https://orcid.org/0000-0003-3239-7877>, Institute of Biochemistry, Physiology of Plants and Microorganisms, RAS, 13 Entuziastov Ave., Saratov 410049, Russia, shirokov_a@ibppm.ru

Ekaterina Yu. Lykova, <https://orcid.org/0000-0002-7285-7025>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, eckaterina_lykova@mail.ru

Elena I. Sarantseva, <https://orcid.org/0000-0002-3507-7708>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, sophora68@mail.ru

Tatyana D. Iskra, <https://orcid.org/0000-0002-1895-8159>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, tata-isk@yandex.ru

Elena L. Vodovozova, <https://orcid.org/0000-0003-0164-7423>, Moscow Institute of Bioorganic Chemistry M. M. Shemyakin and Y. A. Ovchinnikov Russian Academy of Sciences, 16/10 GSP-7, Miklukho-Maklaya St., Moscow 117997, Russia, elvod@lipids.ibch.ru

Aleksandr P. Khorovodov, <https://orcid.org/0000-0002-5318-5200>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, khorovodov2012@yandex.ru

Andrey V. Terskov, <https://orcid.org/0000-0003-1111-9990>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, terskov.andrey@gmail.com

Aysel T. Mamedova, <https://orcid.org/0000-0002-0229-0801>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, mamedovaysel95@gmail.com

Ilana M. Agranovich <https://orcid.org/0000-0002-7903-3897>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, ilana.agranovich@yandex.ru

Maria M. Klimova, <https://orcid.org/0000-0002-2606-8797>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, mari-1997@mail.ru

Oksana V. Semyachkina-Glushkovskaya, <https://orcid.org/0000-6753-7513>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, glushkovskaya@mail.ru

The development of methods of drug delivery to the brain is one of the priorities of the therapy of most cerebral diseases. There are more than 70 technologies to overcome the blood-brain barrier (BBB), but many of them are not widely used in daily clinical practice, as they lead to negative consequences. Here we propose a new method of overcoming the BBB using loud sound (110 dB, 370 Hz, duration – 2 hours). Independent results on mice obtained in several experimental groups clearly demonstrate that sound significantly increases the permeability of BBB to high-molecular substances, as well as to liposomes (100 nm) simulating the delivery to the brain of solutes, proteins and materials with nanocarriers. Sound-induced BBB opening is safe (according to the assessment of the absence of perivascular edema and apoptosis) and reversible (opening / closing of BBB after 1 h/4 h after exposure to sound, respectively) due to compensatory changes in cerebral blood flow. Thus, sound as a natural factor is a new and promising easily feasible method for the successful delivery of drugs to the brain.

Keywords: sound, blood-brain barrier, dextran, brain, GM 1-liposomes, Evans Blue dye.

Acknowledgements: This work was supported by the Russian Science Foundation (project No. 17-15-01263).

References

1. Pardridge W. M. Blood-brain barrier delivery. *Drug Discov Today*, 2007, vol. 12, pp. 54–61.
2. Pardridge W. M. *Brain drug targeting: the future of brain drug development*. Cambridge, Cambridge University Press, 2001. 111 p.
3. Ghose A. K., Viswanadhan V. N., Wendoloski J. J. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *J. Comb Chem.*, 1999, vol. 1, pp. 55–68.
4. Hammarlund-Udenaes M., Lange E. de, Thorne R. G. *Drug Delivery to the Brain: Physiological Concepts, Methodologies and Approaches*. New York, Springer, London, Heiderberg Dordrecht, 2014. 658 p.
5. Mitragotri S. Devices for overcoming biological barriers: The use of physical forces to disrupt the barriers. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2013, vol. 65, pp. 100–103.
6. Pandey P. K., Sharma A. K., Gupta U. Blood brain barrier: An overview on strategies in drug delivery, realistic in vitro modeling and in vivo live tracking. *Published in Tissue Barriers*. 2016. DOI: 10.1080/21688370.2015.1129476
7. Hoffmann A. High and low molecular weight fluorescein isothiocyanate (FITC)-dextran to assess blood-brain barrier disruption: technical consideration. *Transl Stroke Res.*, 2011, vol. 2, iss. 1, pp. 106–111.
8. Wang H.-L., Lai T. W. Optimization of Evans blue quantitation in limited rat tissue samples. *Sci. Rep.*, vol. 4, pp. 6588. Published online 2014 Oct 10. DOI: 10.1038/srep06588
9. Boldyrev I. A., Zhai X., Momsen M. M., Brockman H. L., Brown R. E., Molotkovsky J. G. New BODIPY lipid



- probes for fluorescence studies of membranes. *J. Lipid Res.*, 2007, vol. 48, pp. 1518–1532.
10. Olson F., Hunt C. A., Szoka F. C., Vail W. J., Papahadjopoulos D. Preparation of liposomes of defined size distribution by extrusion through polycarbonate membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1979, vol. 557, pp. 9–23.
11. Rawson R. A. The binding of T-1824 and structurally related diazo dyes by the plasma proteins. *Am. J. Physiol.*, 1943, vol. 138, pp. 708–717.
12. Gregersen M. I., Gibson J. J., Stead E. A. Plasma volume determination with dyes: errors in colorimetry; use of the blue dye T-1824. *Am. J. Physiol.*, 1935, vol. 113, pp. 54–55.
13. Belyaev L., Bustos R., Zhao W., Ginsberg M. D. Quantitative evaluation of blood-brain barrier permeability following middle cerebral artery occlusion in rats. *Brain Res.*, 1996, vol. 739, pp. 88–96.
14. Chen K. B. Increase in Evans blue dye extravasation into the brain in the late developmental stage. *Neuroreport*, 2012, vol. 23, pp. 699–701.
15. Saria A., Lundberg J. M. Evans blue fluorescence: quantitative and morphological evaluation of vascular permeability in animal tissues. *J. Neurosci. Methods*, 1983, vol. 8, pp. 41–49.
16. Mora M. Design and characterization of liposomes containing long-chain N-AcylPEs for brain delivery: penetration of liposomes incorporating GM1 into the rat brain. *Pharm. Res.*, 2002, vol. 19, iss. 10, pp. 1430–1438.

Cite this article as:

Sharif A. E., Abdurashitov A. S., Namykin A. A., Shirokov A. A., Lykova E. Yu., Sarantseva E. I., Iskra T. D., Vodovozova E. L., Khorovodov A. P., Terskov A. V., Mamedova A. T., Agranovich I. M., Klimova M. M., Semyachkina-Glushkovskaya O. V. Changes in Blood-Brain Barrier Permeability under the Influence of Loud Sound. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 312–321 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-312-321>



УДК 577.344.3:579.61:666.1.056

Антибиотическое фотодинамическое воздействие с использованием покрытий на основе наночастиц металлов (Ag, Au)

Е. С. Тучина, Г. А. Гвоздев, И. Д. Кособудский, W.-C. Shih, В. В. Тучин



Тучина Елена Святославна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, kliany@rambler.ru

Гвоздев Герман Александрович, аспирант Физико-технического института, Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., ger7709@yandex.ru

Кособудский Игорь Донатович, доктор физико-математических наук, профессор кафедры химии и химической технологии материалов Физико-технического института, Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., ikosobudsky@gmail.com

Shih Wei-Chuan, Associate Professor, Department of Electrical and Computer Engineering, Biomedical Engineering, Materials Science & Engineering, and Chemistry, University of Houston, Texas, USA, wshih@uh.edu

Тучин Валерий Викторович, доктор физико-математических наук, профессор кафедры оптики и биофотоники, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, tuchinvv@mail.ru

Исследовано сочетанное влияние покрытий на основе наночастиц металлов Ag, Au и ультрафиолетового (365 нм, УФИ) и инфракрасного (808 нм, ИКИ) излучений на бактерии *Staphylococcus aureus* 209 Р. Инкубация взвесей микроорганизмов на поверхности стекол с нанопокрытиями в течение 1 ч не приводила к существенному сокращению числа КОЕ – уменьшение численности показано на 2% в случае с серебряными покрытиями и на 8% – с золотыми. Однако облучение ИКИ бактериальных суспензий вызывало гибель 43% популяции после 5 мин, 86% популяции – после 30 мин. Снижение численности исследуемых микроорганизмов отмечено на 21% после 5 мин и на 75% после 30 мин воздействия серебряных нанопокрытий в сочетании с экспозицией УФИ (365 нм). Уменьшение числа бактериальных клеток на поверхности золотых нанопокрытий происходило на 63% после 5 мин и на 99% – после 30 мин воздействия ИКИ (808 нм). Большая антибактериальная эффективность комбинации золотых нанопокрытий и ИКИ может быть объяснена большей плотностью мощности излучения, а также большей чувствительностью микроорганизмов к фототермическому воздействию.

Ключевые слова: фотодинамическое воздействие, нанопокрытие, наночастицы, Ag, Au, УФ, 365 нм, ИК, 810 нм, микроорганизмы, *S. aureus*.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-322-325>

Введение

Разработка биоактивных покрытий, сочетающих в себе несколько свойств, активно ведется научным сообществом в последние годы. Различные модификации наночастиц благородных металлов позволяют создавать покрытия с настраиваемыми характеристиками [1–6].

Немалый интерес представляет использование подобных материалов для снижения численности условно-патогенных или уничтожения патогенных микроорганизмов. Угнетение роста таких микроорганизмов, как *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Bacillus subtilis*, достигалось при сочетании действия оптического излучения и фотодинамической активности наночастиц в составе покрытий [6–9].

В связи с вышесказанным представляло интерес проанализировать антибиотические свойства новых нанопокрытий с ионами Ag и Au в сочетании с оптическим излучением для подавления бактерий одного из наиболее значимых клинических видов – *Staphylococcus aureus*.

Материалы и методы

В работе использовали два типа образцов, содержащих наночастицы серебра (Ag) или наночастицы золота (Au). Синтез нанопокрытий серебра проводили по схеме, описанной ранее, процедура получения нанопокрытий золота и основные характеристики изложены в работе.

В качестве объекта исследования выбрали типовой штамм *S. aureus* 209 Р (ГИСК им. Л. А. Тарасевича, Москва). Выращивание микроорганизмов проводили при температуре 37° С на универсальной плотной питательной среде (ГРМ-агар, Оболенск, Россия).

Оптические параметры источников лазерного излучения представлены в таблице.

Взвесь микроорганизмов в объеме 0,1 мл (10^4 м.к./мл) наносили на поверхность контрольных стекол и стекол с нанопокрытиями. Контрольные образцы (100%) инкубировали при

Источники излучения, использованные в работе
Sources of radiation used in the work

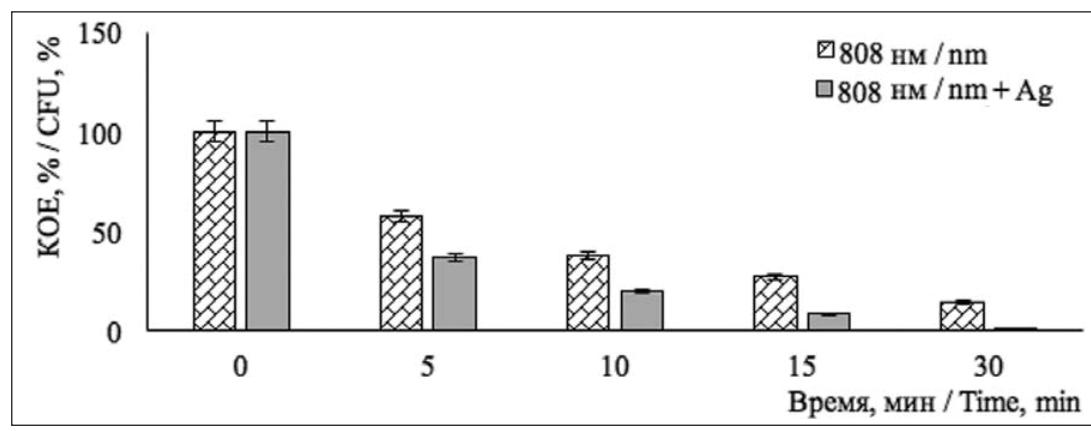
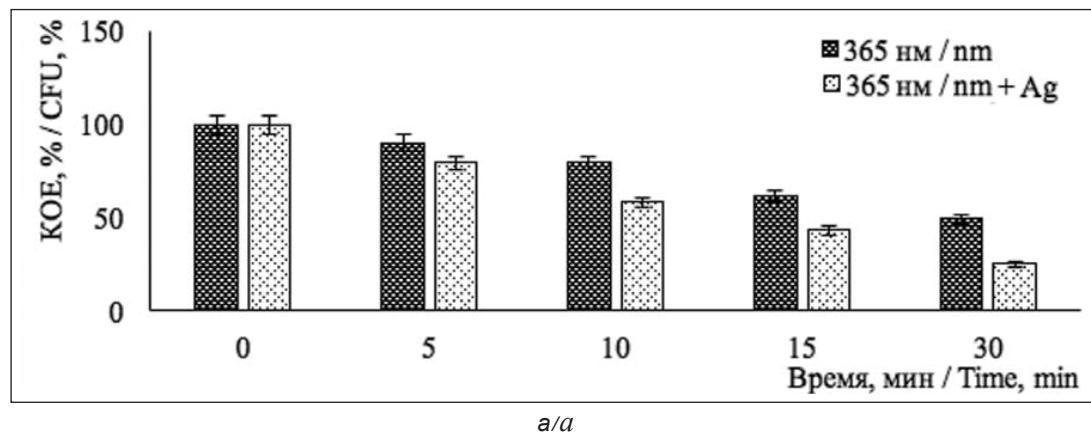
Условные обозначения / Legend	Максимум испускания, нм / Emission maximum, nm	Плотность мощности, мВт/см ² / Power density, mW/cm ²	Тип излучения / Type of radiation
УФИ / UVR	365	8	Светодиодное / Light emitted diod
ИКИ / IRR	808	400	Лазерное / Laser

25° С в течение 1 ч без доступа света; далее 0,1 мл суспензии со стекла переносили на поверхность плотной питательной среды. Экспериментальные образцы помещали под источник излучения, экспозиция составляла 5, 10, 15 и 30 мин. После воздействия взвеси бактерий переносили на чашки Петри с плотной питательной средой и равномерно распределяли по поверхности стерильным шпателем. Учет результатов проводили путем подсчета числа колониеобразующих единиц (КОЕ) через 24–48 ч после инкубации при 37° С. Каждый эксперимент проводили в десятикратной повторности. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали программу Microsoft Excel 2010.

Результаты и их обсуждение

Представляло интерес изучение реакции микроорганизмов на действие УФ (365 нм) и ИК (808 нм) излучений (рисунок). Показано, что в течение первых 5 мин экспозиции УФИ вызывает гибель 10% бактериальной популяции, в то время как ИКИ приводит к снижению численности на 43%. В дальнейшем эта тенденция сохраняется, к 30 мин облучения УФИ число КОЕ сокращается на 51%, при использовании ИКИ – на 86%.

Существенное усиление фотодинамического эффекта отмечено при инкубации взвесей микроорганизмов на поверхности стекол с на-



Изменение числа КОЕ *S. aureus* 209 Р при инкубации на поверхности стекол с нанопокрытиями
The change in the number of CFU *S. aureus* 209 P during incubation on the surface of glasses with nanocoatings



нанопокрытиями. Сочетание серебряного нанопокрытия и УФИ приводило к последовательному сокращению численности популяции на 21, 42, 57, 75% при экспозиции в течение 5, 10, 15, 30 мин (см. рисунок, *а*).

Комбинация ИКИ с золотым нанопокрытием демонстрировала выраженное угнетающее действие в отношении исследуемых микроорганизмов. Уже после 10 мин облучения снижение числа КОЕ отмечено на 80%, а к 30 мин облучения данный показатель снижался на 99% (см. рисунок, *б*).

В работе были использованы два типа источников оптического излучения – светодиод с максимумом испускания 365 нм и лазер с максимумом испускания 808 нм. Недостаточную бактериостатическую активность УФИ в данных экспериментах можно объяснить низкой когерентностью волн, испускаемых светодиодом, и малой плотностью мощности излучения. Однако при инкубации микроорганизмов на поверхности стекол, содержащих в качестве фотодинамических объектов наночастицы серебра, удавалось повысить эффективность АФДВ на 50%. Сочетание лазерного ИКИ с плотностью мощности 400 мВт/см² с покрытиями, содержащими золотые нанодиски, имело ярко выраженное бактерицидное действие (гибель 99% бактериальной популяции). Несмотря на явное преимущество комбинации ИКИ + Au перед УФИ + Ag, механизмы взаимодействия наночастиц в исследованных покрытиях ключевым образом отличаются. В случае УФИ + Ag антибактериальный эффект достигается в ходе фотодинамической реакции и при образовании активных радикалов, в случае с ИКИ + Au основное действие принадлежит локальному, даже точечному нагреванию области контакта бактериальных клеток с золотыми нанодисками.

Образец для цитирования:

Тучина Е. С., Гвоздев Г. А., Кособудский И. Д., Shih W.-C., Тучин В. В. Антимикробное фотодинамическое воздействие с использованием покрытий на основе наночастиц металлов (Ag, Au) // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 322–325. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-322-325>

Antimicrobial Photodynamic Effects Using Coatings Based on Metal Nanoparticles (Ag, Au)

E. S. Tuchina, G. A. Gvozdev, I. D. Kosobudskiy, W.-C. Shih, V. V. Tuchin

Elena S. Tuchina, <https://orcid.org/0000-0003-4498-2846>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, kliany@rambler.ru

Список литературы

1. Palza H., Escobar B., Bejarano J., Bravo D., Diaz-Dosque M., Perez J. Designing antimicrobial bioactive glass materials with embedded metal ions synthesized by the sol-gel method // Materials Science and Engineering: C. 2013. Vol. 33, iss. 7. P. 3795–3801.
2. Jalalannagari S., Deshmukh K., Ramanan S. R., Kowshik M. Antimicrobial activity of hemocompatible silver doped hydroxyapatite nanoparticles synthesized by modified sol-gel technique // Applied Nanoscience. 2014. Vol. 4, iss. 2. P. 133–141.
3. Meeker D. G., Jenkins S. V., Miller E. K., Beenken K. E., Loughran A. J., Powless A., Muldoon T. J., Galan-Zhazh E. I., Zharov V. P., Smeltzer M. S., Chen J. Synergistic Photothermal and Antibiotic Killing of Biofilm-Associated *Staphylococcus aureus* Using Targeted Antibiotic-Loaded Gold Nanoconstructs // ACS Infect. Dis. 2016. Vol. 2, iss. 4. P. 241–250.
4. Hamblin M. R. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation // AIMS Biophys. 2017. Vol. 4. P. 337–361.
5. Penders J., Stolzoff M., Hickey D. J., Andersson M., Webster T. J. Shape-dependent antibacterial effects of non-cytotoxic gold nanoparticles // Int. J. of Nanomedicine. 2017. Vol. 12. P. 2457–2468.
6. Paiva L., Fidalgo T., Costa L. da, Maia L., Balan L., Anselme K., Ploux L., Thire R. Antibacterial properties and compressive strength of new one-step preparation silver nanoparticles in glass ionomer cements (NanoAg-GIC) // J. Dent. 2018. Vol. 69. P. 102–109.
7. Wang S. G., Chen Y. C. Antibacterial gold nanoparticle-based photothermal killing of vancomycin-resistant bacteria // Nanomedicine. 2018. Vol. 13. P. 1405–1416.
8. Тучина Е. С., Гвоздев Г. А., Кособудский И. Д. Изучение антибактериальных свойств покрытий на основе наночастиц металлов (Ag, Zn) в матрице диоксида кремния // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 2. С. 211–215. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-211-215
9. Santos G. M., De Santi Ferrara F. I., Zhao F., Rodrigues D. F., Shih W. C. Photothermal inactivation of heat-resistant bacteria on nanoporous gold disk arrays // Opt. Mater. Express. 2016. Vol. 6. P. 1217–1229.

German A. Gvozdev, <https://orcid.org/0000-0003-3251-6565>, Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, 77 Politehnicheskaya St., Saratov 410054, Russia, ger7709@yandex.ru

Igor D. Kosobudskiy, <https://orcid.org/0000-0002-5970-3857>, Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, 77 Politehnicheskaya St., Saratov 410054, Russia, ikosobudskiy@gmail.com

Wei-Chuan Shih, University of Houston, Texas, Houston, Eng. Bldg. 1 N 308, 77204, USA, wshih@uh.edu

Valeriy V. Tuchin, <https://orcid.org/0000-0001-7479-2694>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, kliany@rambler.ru

The combined effect of coatings based on nanoparticles of metals Ag, Au, ultraviolet (365 nm, UVR) and infrared (808 nm, IRR) radiation on *Staphylococcus aureus* 209 P was studied. Decrease in numbers was shown by 2% in the case of silver coatings and by 8% in the case of gold coatings after 1 h incubation. However, exposure of the IRR to bacterial suspensions caused the death of 43% of the population after 5 min, 86% of the population after 30 min. The decrease in the number of the studied microorganisms was measured as 21% after 5 min and by 75% after 30 min of exposure to silver nanocoatings in combination with UVR (365 nm). The decrease in the number of bacterial cells on the surface of gold nanocoatings was 63% and occurred after 5 min and was 99% after 30 min of exposure to IRR (808 nm). The high antibacterial efficacy of a combination of gold nanocoatings and IRR can be explained by a higher density of radiation power, as well as a greater sensitivity of microorganisms to photothermal effects.

Keywords: photodynamic effect, nanocoating, nanoparticles, Ag, Au, UV, 365 nm, IR, 810 nm, microorganisms, *S. aureus*.

References

1. Palza H., Escobar B., Bejarano J., Bravo D., Diaz-Dosque M., Perez J. Designing antimicrobial bioactive glass materials with embedded metal ions synthesized by the sol-gel method. *Materials Science and Engineering: C*, 2013, vol. 33, iss 7, pp. 3795–3801.
2. Jalalannagari S., Deshmukh K., Ramanan S. R., Kowshik M. Antimicrobial activity of hemocompatible silver doped hydroxyapatite nanoparticles synthesized by modified sol-gel technique. *Applied Nanoscience*, 2014, vol. 4, iss. 2, pp. 133–141.
3. Meeker D. G., Jenkins S. V., Miller E. K., Beenken K. E., Loughran A. J., Powless A., Muldoon T. J., Galan-zha E. I., Zharov V. P., Smeltzer M. S., Chen J. Synergistic Photothermal and Antibiotic Killing of Biofilm-Associated *Staphylococcus aureus* Using Targeted Antibiotic-Loaded Gold Nanoconstructs. *ACS Infect. Dis.*, 2016, vol. 2, iss. 4, pp. 241–250.
4. Hamblin M. R. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS Biophys.*, 2017, vol. 4, pp. 337–361.
5. Penders J., Stolzoff M., Hickey D. J., Andersson M., Webster T. J. Shape-dependent antibacterial effects of non-cytotoxic gold nanoparticles. *Int. J. of Nanomedicine*, 2017, vol. 12, pp. 2457–2468.
6. Paiva L., Fidalgo T., Costa L. da, Maia L., Balan L., Anselme K., Ploux L., Thire R. Antibacterial properties and compressive strength of new one-step preparation silver nanoparticles in glass ionomer cements (NanoAg-GIC). *J. Dent.*, 2018, vol. 69, pp. 102–109.
7. Wang S. G., Chen Y. C. Antibacterial gold nanoparticle-based photothermal killing of vancomycin-resistant bacteria. *Nanomedicine*, 2018, vol. 13, pp. 1405–1416.
8. Tuchina E. S., Gvozdev G. A., Kosobudskiy I. D. The Study of Antibacterial Properties of Coatings Based on Metal (Ag, Zn) Nanoparticles in Silicon Dioxide Matrix. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 2, pp. 211–215 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-211-215.
9. Santos G. M., De Santi Ferrara F. I., Zhao F., Rodrigues D. F., Shih W. C. Photothermal inactivation of heat-resistant bacteria on nanoporous gold disk arrays. *Opt. Mater. Express.*, 2016, vol. 6, pp. 1217–1229.

Cite this article as:

Tuchina E. S., Gvozdev G. A., Kosobudskiy I. D., Shih W.-C., Tuchin V. V. Antimicrobial Photodynamic Effects Using Coatings Based on Metal Nanoparticles (Ag, Au). *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 322–325 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-322-325>



Применение нового инструментального метода для оценки функционального состояния клеток *Francisella tularensis* в стрессовых условиях

С. В. Борисова, Е. М. Кузнецова, П. С. Ерохин, О. А. Волох

Борисова Светлана Владимировна, магистр кафедры биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Svetlana.Borisova@yandex.ru

Кузнецова Екатерина Михайловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории холерных вакцин ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, lhv@microbe.ru

Ерохин Павел Сергеевич, научный сотрудник лаборатории диагностики инфекционных болезней ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, lhv@microbe.ru

Волох Оксана Александровна, кандидат биологических наук, заведующий лаборатории холерных вакцин ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, lhv@microbe.ru

Строение поверхности клетки отражает функциональное состояние бактерии в целом. Наличие специфических признаков клеток сказывается на биофизических характеристиках их поверхности – заряде, свободной энергии и гидрофобности. Взаимодействие бактерий с биомолекулами и частицами также связано с этими характеристиками поверхности. Целью нашей работы было изучение функционального состояния клеток *F. tularensis* 15 НИИЭГ при культивировании в условиях стресса с помощью электрооптического (ЭО) мониторинга. Было показано, что при воздействии повышенной температуры в сочетании с перекисным стрессом изменяются показатели жизнеспособности клеток, а также поверхность клеточной стенки. Вместе с этим стресс стимулирует у бактерии экспрессию иммунореактивных стрессовых белков. Производилось изучение воздействия малых доз антибиотика на биофизические параметры клеток *F. tularensis* в течение короткого времени – 1 ч. В эксперименте были использованы антибиотики, применяемые при лечении туляремии, – стрептомицин, канамицин и ампициллин в концентрации 0,5 г/л. Было выявлено, что наибольшим повреждающим действием на клетку в данной концентрации обладает ампициллин. При воздействии канамицина и стрептомицина также наблюдаются изменения жизнеспособности клеток *F. tularensis*, но в меньшей степени. Таким образом, условия культивирования *F. tularensis* влияют на жизненные показатели клеток и уровень экспрессии антигенов. Электрооптический анализ успешно регистрирует различные типы воздействия на клетки микроорганизма и является перспективным методом контроля при разработке профилактических и диагностических препаратов.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*, электрооптический анализ, стресс, атомно-силовая микроскопия.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-326-330>



Введение

Туляремия – зоонозная природно-очаговая инфекция, возбудитель которой *Francisella tularensis*, грамотрицательная факультативно-анаэробная внутриклеточная бактерия, может вызывать вспышки заболевания среди широкого круга хозяев, включая человека, что представляет проблему для практического здравоохранения [1].

В процессе адаптации клетки к определенным условиям изменяется строение клеточной поверхности, что отражает также и ее функциональное состояние. Наличие специфических признаков клеток сказывается на биофизических характеристиках их поверхности – заряде, свободной энергии и гидрофобности. Взаимодействие бактерий с биомолекулами и частицами также связано с этими характеристиками поверхности [2].

Целью нашей работы было изучение функционального состояния клеток *F. tularensis* 15 НИИЭГ при культивировании в условиях стресса с помощью электрооптического (ЭО) мониторинга.

Материалы и методы

Объектом изучения были бактерии *F. tularensis* subsp. *holoarctica* штамм 15 НИИЭГ (получен из Государственной коллекции патогенных коллекции «Микроб»). Штамм выращивали на пластинках FT агара (пр-ва ГНЦ ПМБ, Оболенск) при 37° С в течение 48 ч. Затем бактерии инокулировали в бульоне Мюллера – Хинтона с Т-добавкой pH 7,4 и культивировали в колбах Эрленмейера на термостатируемой качалке (MULTITRON II, Infors) при 200 об/мин в течение 16 ч при (37 ± 2)° С до достижения экспоненциальной фазы роста. Полученную ночную культуру подвергали следующему воздействию: температурному стрессу – повышению температуры до 42° С; сочетанию температурного стресса с перекисным окислением; воздействию антибиотиков.



Результаты и их обсуждение

1. Воздействие перекисного и температурного стресса на клетки *F. tularensis*

Для изучения перекисного и температурного стресса добавляли H_2O_2 до конечной концентрации 5 мМ, повышали температуру выращивания до 42° С и культивировали еще в течение 2 ч. Контрольные образцы выращивали без перекиси водорода при 37° С. В ходе эксперимента

было показано: выращивание *F. tularensis* в стрессовых условиях приводит к изменению электрооптического (ЭО) эффекта (рис. 1), что свидетельствует об изменении ориентационного спектра клеток. Нами установлено, что стресс-условия (42° С, H_2O_2) незначительно снижали жизнеспособность *F. tularensis*, но приводили к значительному увеличению экспрессии белков теплового шока, и это согласуется с литературными данными [3].

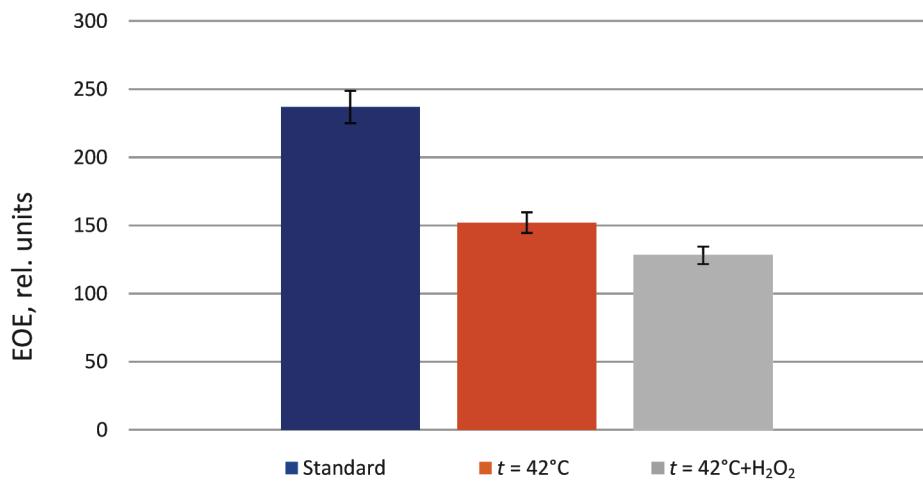


Рис. 1. Изменение показателя электрооптического эффекта при частоте 900 кГц

Fig. 1. The change of the electro-optical effect at a frequency of 900 kHz

Интерес представляет также изменение показателей поверхности клетки – ригидности и шероховатости клеточной стенки, которые оценивались с помощью метода атомно-силовой микроскопии.

Изменение условий сказывается на шероховатости клеточной поверхности (рис. 2). Таким образом, чем более жесткими становятся условия для бактерии, тем более отчетливо видны данные изменения.

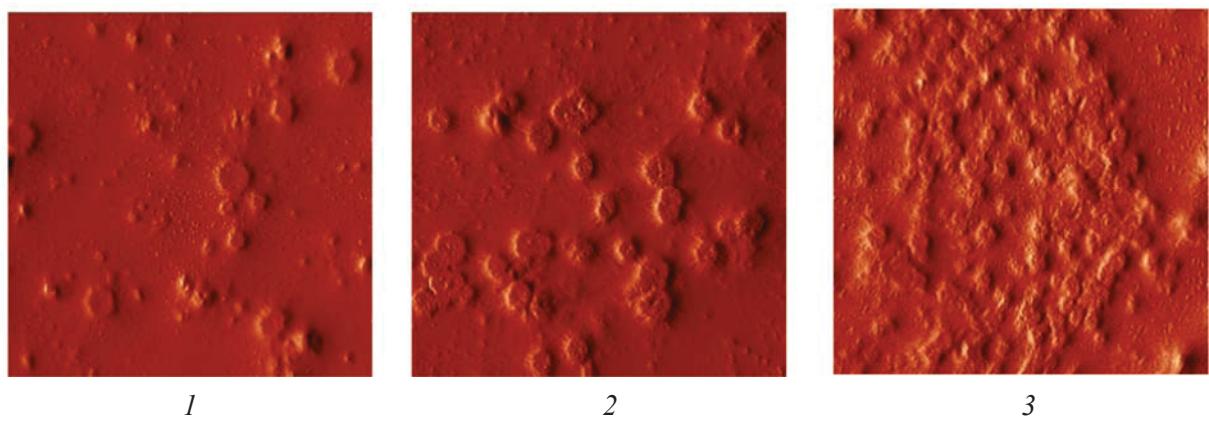


Рис. 2. Атомно-силовая микроскопия клеток *F. tularensis*, выращенных в различных условиях: 1 – контроль; 2 – $t = 42^\circ\text{C}$; 3 – $42^\circ\text{C} + \text{H}_2\text{O}_2$

Fig. 2. Atomic force microscopy of *F. tularensis* cells grown under different conditions: 1 – control; 2 – $t = 42^\circ\text{C}$; 3 – $42^\circ\text{C} + \text{H}_2\text{O}_2$

Методами электрофореза в полиакриламидном геле (SDS-PAGE) [4] и иммуноблоттинга [5] был проведен анализ выделенных фракций

белков *F. tularensis* 15НИИЭГ, секрецируемых в культуральную жидкость при выращивании без стрессового воздействия и под действием

стресса. Было показано увеличение экспрессии иммунореактивных стрессовых белков *F. tularensis*, в частности одного из белков шаперонов – GroEL (60 кДа), под действием перикисного и температурного стресса по сравнению с контрольным вариантом опыта (рис. 3).

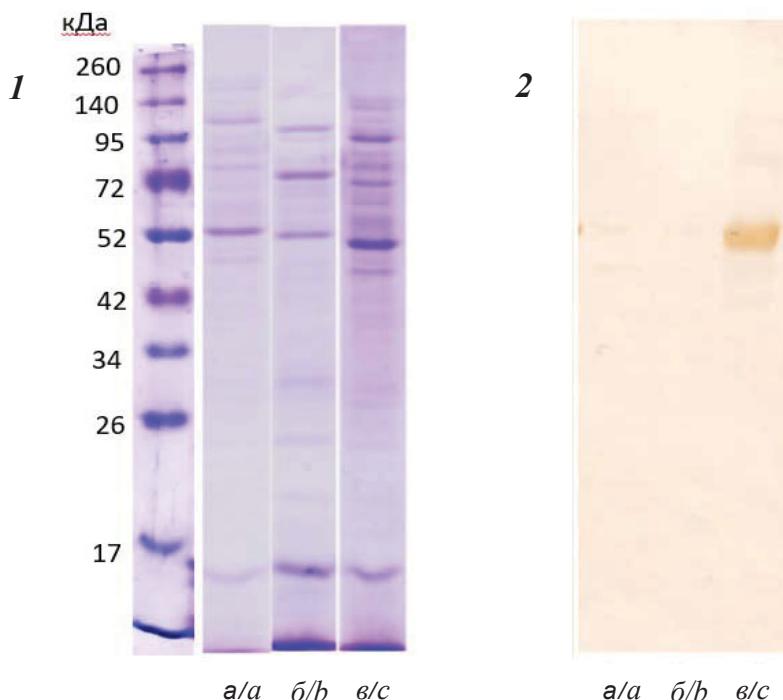


Рис. 3. Результаты SDS-PAGE и иммуноблоттинга белков, секретируемых бактериями *F. tularensis* 15НИИЭГ при выращивании в течение 16 ч на жидких средах: 1 – белковый профиль, полиакриламидный гель окрашен кумасси синим R-250; 2 – иммуноблоттинг с сывороткой б/м, вакцинированной *F. tularensis* 15НИИЭГ; а – контроль, без стрессового воздействия, б – на 2 ч повышение температуры выращивания до 42° С; в – на 2 ч повышение температуры выращивания до 42° С и добавление 5 mM H₂O₂

Fig. 3. The results of SDS-PAGE and immunoblotting of proteins secreted by bacteria *F. tularensis* 15NIIIEG when grown for 16 hours in liquid media: 1 – protein profile, polyacrylamide gel, colored with Kumassi blue R-250; 2 – immunoblot with serum b/m vaccinated with *F. tularensis* 15NIIIEG; a – control, without stress, b – for two hours raising the temperature of growing to 42° C; c – for two hours, raising the cultivation temperature to 42° C and adding 5 mM H₂O₂

2. Воздействие антибиотиков как стресс-фактора

Производилось изучение воздействия малых доз антибиотика на биофизические параметры клеток *F. tularensis*. В эксперименте были использованы антибиотики, применяемые при лечении туляремии, – стрептомицин, канамицин и ампициллин в концентрации 0,5 г/л.

Было выявлено, что наибольшим повреждающим действием на клетку в данной концентрации обладает ампициллин. Уже на начальном этапе взаимодействия антибиотика с клеткой сопротивляемость была снижена в два раза. Это говорит о сорбировании частиц антибиотика на мембране. Через 15 мин сопротивляемость

клетки резко возрастает. По-видимому, в данный момент происходит активная стабилизация мембраны клетки с целью защиты от повреждающего фактора. Спустя 45 мин снова наблюдается снижение сопротивляемости клетки, что связано с нарушением целостности мембран (рис. 4).

При воздействии канамицина и стрептомицина также наблюдаются похожие показатели, но в меньшей степени.

Заключение

Таким образом, условия культивирования *F. tularensis* влияют на жизненные показатели клеток и уровень экспрессии антигенов. Электрооптический анализ успешно регистрирует разные

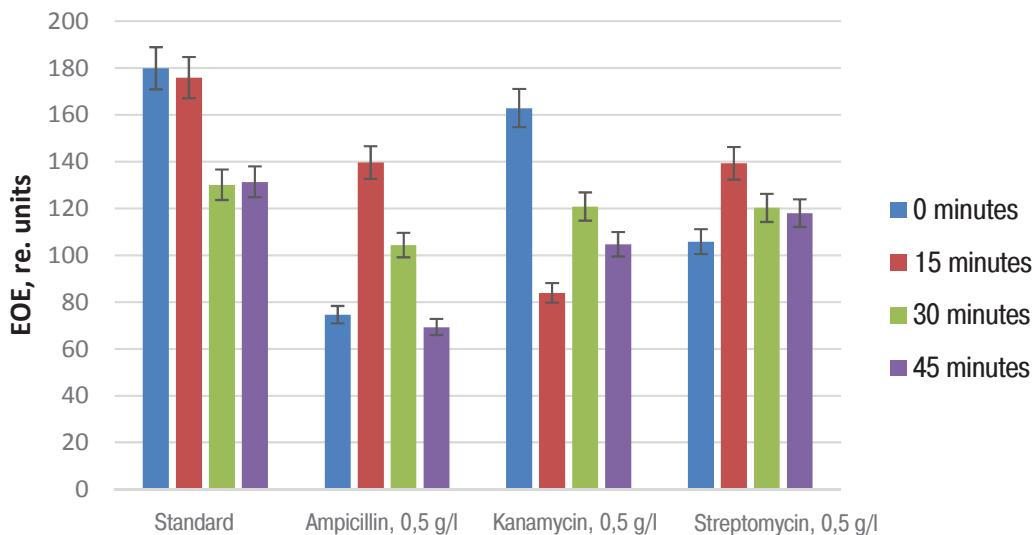


Рис. 4. Изменение электрооптического эффекта клеток *F. tularensis* под действием антибиотиков при частоте ориентирующего поля 900 кГц

Fig. 4. Changes in the electro-optical effect of *F. tularensis* cells at a frequency of the orienting field of 900 kHz

типы воздействия на клетки микроорганизма. ЭО мониторинг функционального состояния микробных клеток в режиме реального времени является перспективным методом контроля при разработке профилактических и диагностических препаратов.

Список литературы

- Дунаева Т. Н., Емельянова О. С., Майский И. Н., Мясников Ю. А., Олсуфьев Н. Г., Руднев Г. П., Савельева Р. А., Сильченко В. С. Туляремия / под ред. Н. Г. Олсуфьева и Г. П. Руднева. М. : Медгиз, 1960. 460 с.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K.,

Образец для цитирования:

Борисова С. В., Кузнецова Е. М., Ерохин П. С., Волох О. А. Применение нового инструментального метода для оценки функционального состояния клеток *Francisella tularensis* в стрессовых условиях // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 326–330. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-326-330>

Application of New Instrumental Methods for Evaluation of the Functional State of Cells of *Francisella Tularensis* in a Stressful Environment

**S. V. Borisova, E. M. Kuznetsova,
P. S. Erokhin, O. A. Volokh**

Svetlana V. Borisova, <https://orcid.org/0000-0003-3793-6526>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, Svetlana.Borisova@yandex.ru

Ekaterina M. Kuznetsova, <https://orcid.org/0000-0002-2128-5426>, Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, 46 Universitetskaya St., Saratov 410005, Russia, lhv@microbe.ru

Walter P. Molecular Biology of the Cell. 5th ed. N.Y. : Garland Science, 2007. 1392 p.

- Erisson E., Ericsson M., Tärnvik A., Kuoppa K., Sandström G., Sjöstedt A. Increased Synthesis of DnaK, GroEL, and GroES Homologs by *Francisella tularensis* LVS in Response to Heat and Hydrogen Peroxide // Infection and Immunity. 1994. Jan. P. 178–183.
- Laemmli U. K. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4 // Nature. 1970. Vol. 277. P. 680–685.
- Towbin H., Staehelin T., Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some applications // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1979. Vol. 76, iss. 9. P. 4350–4354.

Pavel S. Erokhin, <https://orcid.org/0000-0003-2175-5333>, Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, 46 Universitetskaya St., Saratov 410005, Russia, lhv@microbe.ru

Oksana A. Volokh, <https://orcid.org/0000-0002-3044-971X>, Institute "Microbe" of Rospotrebnadzor, 46 Universitetskaya St., Saratov 410005, Russia, lhv@microbe.ru

The structure of the cell surface reflects the functional state of the bacterium as a whole. The presence of specific features of cells affects the biophysical characteristics of their surface: charge, free energy and hydrophobicity. The interaction of bacteria with biomolecules and particles is also related to these surface characteristics. The aim of our work was to study the function of *F. tularensis*



15 NIIEG cells under cultivation under stress using electro-optical (EO) monitoring. It was shown that under the influence of elevated temperature in combination with peroxide stress, the cell viability indices, as well as the surface of the cell wall, change. At the same time, stress stimulates expression of immunoreactive stress proteins in bacteria. The effect of small doses of antibiotic on the biophysical parameters of *F. tularensis* cells was studied for a short time – 1 hour. In the experiment, antibiotics used in the treatment of tularemia – streptomycin, kanamycin and ampicillin at a concentration of 0.5 g/l were used. It was found that the greatest damaging effect on the cell in this concentration was by ampicillin. When exposed to kanamycin and streptomycin, changes in the viability of *F. tularensis* cells were also observed, but to a lesser extent. Thus, the conditions of cultivation *F. tularensis* affect the vital signs of cells and the level of antigen expression. Electro-optical analysis successfully registers various types of exposure to microbial cells and is a promising method of control in the development of preventive and diagnostic medicaments.

Keywords: *Francisella tularensis*, electro-optical analysis, stress, atomic force microscopy.

References

1. Dunaeva T. N., Emelyanova O. S., May I. N., Myasnikov Y. A., Olsufiev N. G., Rudnev G. P., Saveliev R. A., Silchenko V. S. *Tularemia*. Eds. G. Olsufyev, G. P. Rudnev. Moscow, Medgiz Publ., 1960. 460 p.
2. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. *Molecular Biology of the Cell*. 5th ed. New York, Garland Science, 2007. 1392 p.
3. Ersson E., Ericsson M., Tärnvik A., Kuoppa K., Sandström G., Sjöstedt A. Increased Synthesis of DnaK, GroEL, and GroES Homologs by *Francisella tularensis* LVS in Response to Heat and Hydrogen Peroxide. *Infection and Immunity*, 1994, Jan, pp. 178–183.
4. Laemmli U. K. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 1970, vol. 277, pp. 680–685.
5. Towbin H., Staehelin T., Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1979, vol. 76, iss. 9, pp. 4350–4354.

Cite this article as:

Borisova S. V., Kuznetsova E. M., Erokhin P. S., Volokh O. A. Application of New Instrumental Methods for Evaluation of the Functional State of Cells of *Francisella tularensis* in a Stressful Environment. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 326–330 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-326-330>



УДК 579.61

Оценка влияния наночастиц серебра, стабилизированных полимерными соединениями, на выживаемость штаммов *Staphylococcus aureus*

Т. А. Шульгина, Е. В. Глинская, О. В. Нечаева, А. С. Торгашова, К. В. Зубова



Шульгина Татьяна Андреевна, биолог отделения лабораторной диагностики НИИ травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, tshulgina2012@yandex.ru

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

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

Торгашова Анна Сергеевна, студент, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, gekon_toki@mail.ru

Зубова Ксения Валерьевна, студент, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, zubovaksushechka@mail.ru

Изучена антимикробная активность наночастиц серебра, стабилизированных различными природными и синтетическими полимерными соединениями, в отношении стандартного и клинических штаммов *Staphylococcus aureus*. Установлено, что наибольшей эффективностью характеризовались наночастицы серебра, стабилизированные поливиниловым спиртом, карбоксиметилцеллюзой и полиазолидинаммонием, модифицированным гидрат-ионами йода. Концентрации наночастиц 1–3% оказывали антибактериальное действие в отношении всех исследуемых штаммов бактерий. Низкая чувствительность исследуемых штаммов к действию наночастиц, стабилизированных олеатом натрия *S. aureus*, вероятно, связана с его низкой стабилизирующей способностью и высокой скоростью агрегации наночастиц. Высокий уровень токсичности додецилсульфатом натрия приводил к повышению его антимикробной активности. Проведенные исследования позволили установить, что наиболее перспективным антимикробным компонентом при разработке антисептических и дезинфицирующих средств являются наночастицы серебра, стабилизированные полиазолидинаммонием, модифицированным гидрат-ионами йода.

Ключевые слова: наночастицы серебра, стабилизаторы, антимикробная активность, *Staphylococcus aureus*.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-331-337>

Одной из актуальных проблем современности являются рост встречаемости и распространение антибиотикорезистентных штаммов условно-патогенных микроорганизмов [1, 2].

Этому способствуют нерациональная антибиотикотерапия, несоблюдение схем приема антимикробных препаратов, их избыточное назначение, в том числе для профилактики инфекционных осложнений, а также самолечение антибиотиками [3, 4]. Важную роль в распространении устойчивых штаммов микроорганизмов играют домашние животные, поскольку антибиотики могут входить в состав кормов, а также использоваться в качестве стимуляторов роста [5]. Так, например, животные могут быть источником метициллинрезистентных *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, бактерий *Salmonella*, *Campylobacter*, передача которых человеку происходит при непосредственном контакте или алиментарным путем [6, 7].

Поэтому поиск и внедрение в практику альтернативных антимикробных препаратов, позволяющих преодолевать антибиотикорезистентность возбудителей, являются актуальными [8]. В настоящее время нанотехнологии находят широкое применение в различных областях прикладной микробиологии, ветеринарии и медицины. В частности, в качестве эффективного антимикробного компонента широко применяются наночастицы серебра, поскольку в отечественной и зарубежной литературе отсутствуют данные о формировании к ним устойчивости [9]. Вероятно, это связано со специфическим механизмом действия наночастиц серебра на микробные клетки, которое проявляется в изменение проницаемости их поверхностных структур, влиянии на белки, нуклеиновые кислоты, а также нарушении процесса адгезии на чувствительных клетках макроорганизма [10–13].

Однако ограничивающими факторами использования наночастиц металлов в медицинской и ветеринарной практике являются их высокая токсичность и низкий уровень стабильности, в результате чего происходит их агрегация и утрата уникальных биоцидных свойств [14, 15]. Поэтому выбор стабилизатора, необходимого для поддержания металлических структур в наноразмерном диапазоне, имеет очень важное значение.

В связи с вышеизложенным целью работы являлись исследование антимикробной актив-

ности наночастиц серебра, стабилизованных природными и синтетическими полимерами, и выбор наиболее перспективных вариантов для использования в медико-биологической практике.

Материалы и методы

В исследованиях использовали наночастицы серебра (ООО М9, Тольятти), характеристика которых представлена в таблице.

Характеристика исследуемых наночастиц металлов Characterization of the Metal Nanoparticles

№	Лабораторный шифр / Laboratory cipher	Характеристика препарата / Preparation Characteristics
1	Ag/PVA	Наночастицы серебра, стабилизированные поливиниловым спиртом / Silver nanoparticles Stabilized with Polyvinyl Alcohol
2	Ag/CMC	Наночастицы серебра, стабилизированные карбоксиметилцеллюзой / Silver Nanoparticles Stabilized by Carboxymethyl Cellulose
3	Ag/OleNa	Наночастицы серебра, стабилизированные олеатом натрия / Silver Nanoparticles Stabilized with Sodium Oleate
4	Ag/SDS	Наночастицы серебра, стабилизированные додецилсульфатом натрия / Stabilized with Sodium Dodecyl Sulfate
5	Ag/PG-m	Наночастицы серебра, стабилизированные полиазолидинаммонием, модифицированным гидрат-ионами йода / Silver Nanoparticles Stabilized with Polyazolidinammonium Modified with Iodine Hydrate ions

В качестве экспериментальной модели использовали стандартный штамм *S. aureus* 209 Р, клинические штаммы *S. aureus*, которые были выделены от больных с гнойным поражением кожных покровов, находящихся на амбулаторном лечении в ГУЗ Саратовский областной клинический кожно-венерологический диспансер. Выбор стафилококков в качестве объекта исследования был связан с тем, что они, являясь условно-патогенными микроорганизмами, могут входить в состав нормальной микрофлоры кожных покровов, играть ведущую роль в развитии инфекционных патологий данной локализации.

Оценку антимикробной активности разных вариантов наночастиц серебра проводили с использованием метода серийных разведений в твердой питательной среде [16]. Для этого получали последовательные разведения исследуемых препаратов, вносили их в состав мясо-пептонного агара (МПА) с учетом концентрации и разливали в стерильные чашки Петри. Согласно рекомендации фирмы производителя, исследования проводили с концентрацией опытных образцов: 3, 2, 1, 0,5, 0,25 и 0,125%. В качестве контроля использовали посевы микроорганизмов на питательные среды без добавления наночастиц серебра. Микробную взвесь штаммов *S. aureus* (10^4 м.к./мл) наносили по 100 мкл на поверхность МПА и равномерно распределяли шпателем. Посевы инкубировали в течение 24 ч в термостате при температуре 37° С, после чего подсчитывали количество выросших колоний и сравнивали их с контрольным посевом. Жизнеспособность бактерий оценивали по числу

колониообразующих единиц (КОЕ). В исследованиях не использовали наночастицы серебра без стабилизаторов, поскольку их отсутствие приводило к быстрой агломерацииnanoструктур и утрате наноразмерных характеристик.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного обеспечения Statistica 10 (for Windows, Stat Soft Inc., США), Microsoft Excel 2003 (for Windows XP). Определяли χ^2 при ранговом дисперсионном анализе и конкордации Кендалла. Для проведения многофакторного анализа использовали построение нормальной логарифмической модели. Статистические результаты считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Изучение антимикробной активности наночастиц серебра, стабилизированных синтетическим полимером – поливиниловым спиртом, – показало неодинаковую чувствительность к нему исследуемых штаммов стафилококков. Наибольшей чувствительностью характеризовался стандартный штамм *S. Aureus* 209 Р, концентрации наночастиц серебра 0,5–3% приводили к отсутствию роста штамма, а концентрации 0,125 и 0,25% снижали показатели КОЕ на 90,2 и 70,4% соответственно. Сходные результаты были получены при культивировании клинических штаммов *S. aureus* № 21, 111, 311 и 327 на среде в присутствии Ag/PVA, который значительно подавлял рост бактерий в диапазоне концентраций 0,5–3%, а более низкие концентрации снижали показатели КОЕ на 88,3–95,9%. Наибольшая

устойчивость к действию Ag/PVA была установлена для штамма *S. aureus* № 3, поскольку отсутствие роста было показано для концентраций препарата 1–3%, а более низкие концентрации способствовали снижению значений КОЕ на 65,9–80,7% (рис. 1).

Аналогичные результаты были получены при культивировании стандартного и клинических штаммов *S. aureus* на среде с добавлением

наночастиц серебра, стабилизированных природным полимером – карбоксиметилцеллюлозой (рис. 2). Использование наночастиц Ag/СМС в концентрациях 0,5–3% приводило к полному отсутствию роста всех исследуемых штаммов, при использовании остальных рабочих концентраций показатели КОЕ были достоверно ниже контрольных значений и снижались на 72,9–97,8%.

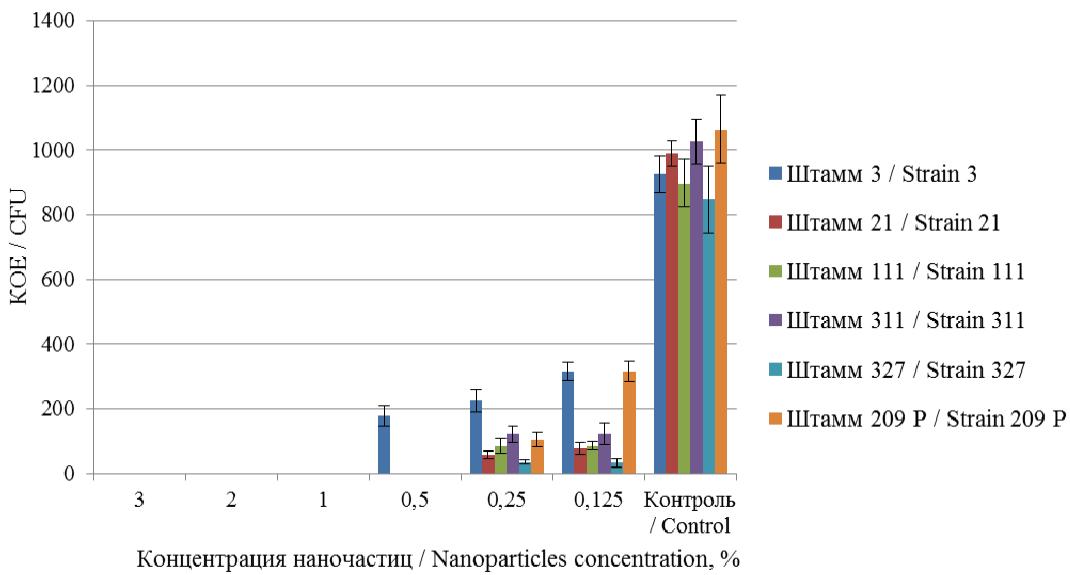


Рис. 1. Влияние наночастиц Ag/PVA/W 500 на количественные показатели (КОЕ/чашка) штаммов *S. aureus* ($M \pm m$; $\chi^2 = 12,89$; $p \leq 0,05$)

Рис. 1. Effect of Ag/PVA/W 500 Nanoparticles on CFU / Petri Dish of *S. aureus* Strains ($M \pm m$; $\chi^2 = 12,89$; $p \leq 0,05$) (color online)

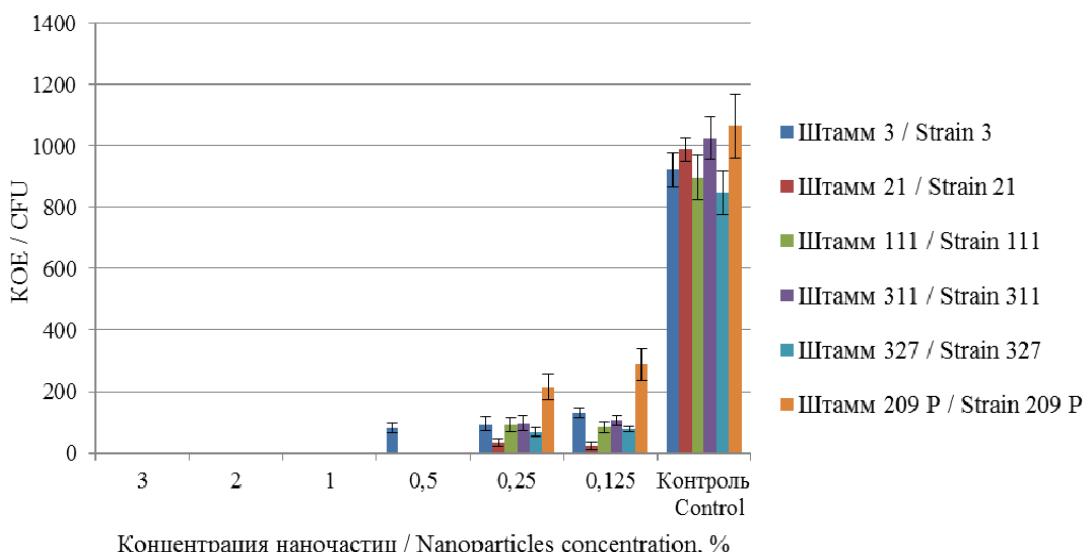


Рис. 2. Влияние наночастиц Ag/CMC/W 500 на количественные показатели (КОЕ/чашка) штаммов *S. aureus* ($M \pm m$; $\chi^2 = 12,00$; $p \leq 0,05$)

Рис. 2. Effect of Ag/CMC/W 500 Nanoparticles on CFU / Petri Dish of *S. aureus* Strains ($M \pm m$; $\chi^2 = 12,00$; $p \leq 0,05$) (color online)

Наночастицы серебра, стабилизированные олеатом натрия, характеризовались низким уровнем антимикробной активности, а наибольшая чувствительность к их действию установлена для стандартного штамма *S. aureus* 209 Р и клинических штаммов *S. aureus* № 311 и 327. Полное отсутствие роста колоний на-

блюдалось только при концентрации наночастиц 3%. Остальные рабочие разведения препарата приводили к снижению показателей КОЕ на 27–93,9% (рис. 3). При действии препарата в диапазоне концентраций 0,125–0,5% показатели КОЕ достоверно не отличались от контрольных значений.

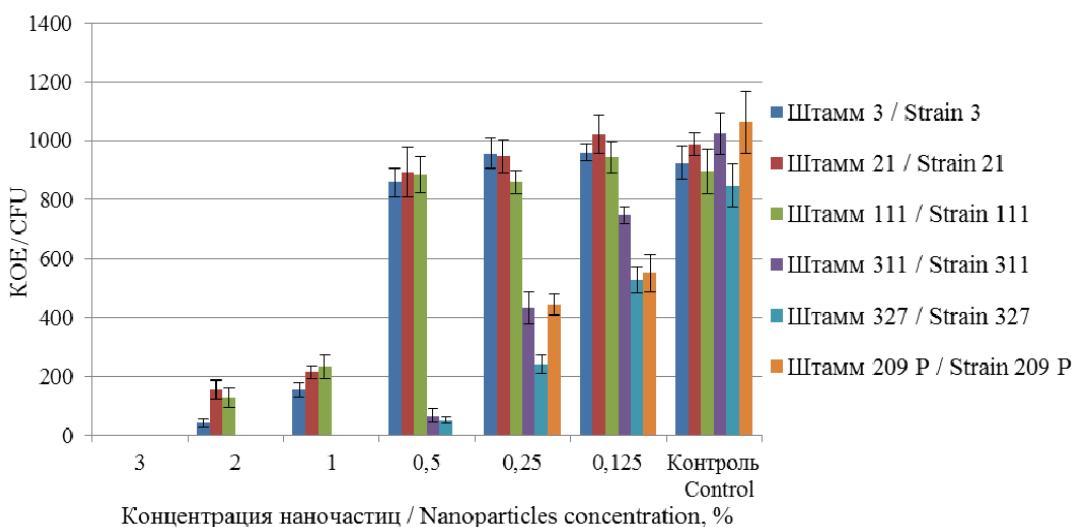


Рис. 3. Влияние наночастиц Ag/OleNa/W 500 на количественные показатели (КОЕ/чашка) штаммов *S. aureus* ($M \pm m$; $\chi^2 = 17,62$; $p \leq 0,05$)

Рис. 3. Effect of Ag/OleNa/W 500 Nanoparticles on CFU / Petri Dish of *S. aureus* Strains ($M \pm m$; $\chi^2 = 17,62$; $p \leq 0,05$) (color online)

Высокая чувствительность всех исследованных штаммов *S. aureus* установлена при действии наночастиц серебра, стабилизированных додецилсульфатом натрия. Наибольшая чувствительность к Ag/SDS выявлена для стан-

дартного штамма *S. aureus* 209 Р и клинического штамма *S. aureus* № 21, на которые все рабочие разведения препарата оказывали сильное антимикробное действие (рис. 4). В отношении клинических штаммов *S. aureus* № 3, 111, 311

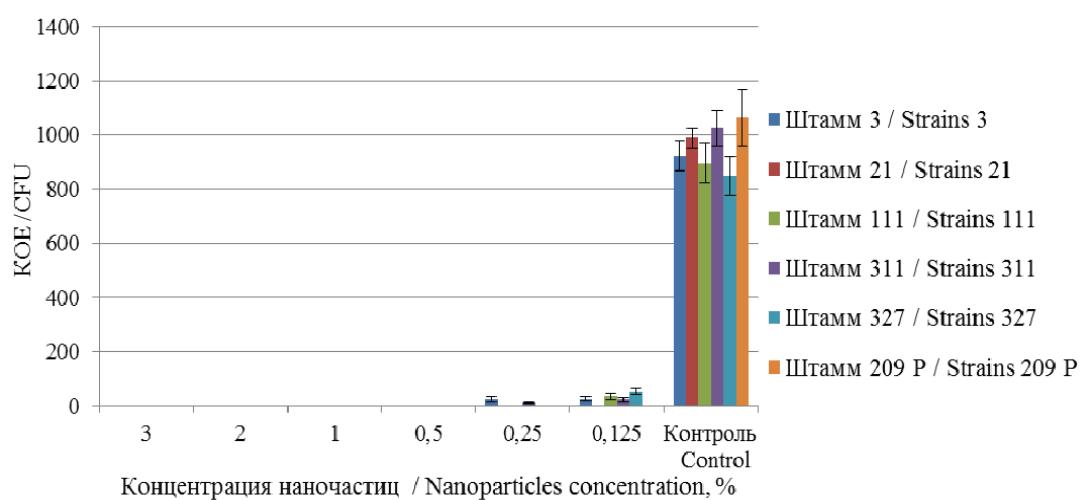


Рис. 4. Влияние наночастиц Ag/SDS/W 500 на количественные показатели (КОЕ/чашка) штаммов *S. aureus* ($M \pm m$; $\chi^2 = 2,23$; $p \leq 0,05$)

Рис. 4. Effect of Ag/SDS/W 500 Nanoparticles on CFU / Petri Dish of *S. aureus* Strains ($M \pm m$; $\chi^2 = 2,23$; $p \leq 0,05$) (color online)

и 327 низкие концентрации рабочих разведений оказывали слабое антибактериальное действие, на питательных средах отмечался рост стафилококков в виде единичных колоний, а показатели КОЕ снижались на 93,6–98,8% по сравнению с контролем.

Высокой эффективностью действия характеризовались наночастицы серебра, стабилизи-

рованные полиазолидинаммонием, модифицированным гидрат-ионами йода (рис. 5). Полное отсутствие роста всех исследуемых штаммов наблюдалось при использовании наночастиц Ag/PG-m в диапазоне концентраций 0,5–3%, а более низкие концентрации способствовали снижению показателей КОЕ на 80,1–99% по сравнению с контрольными значениями.

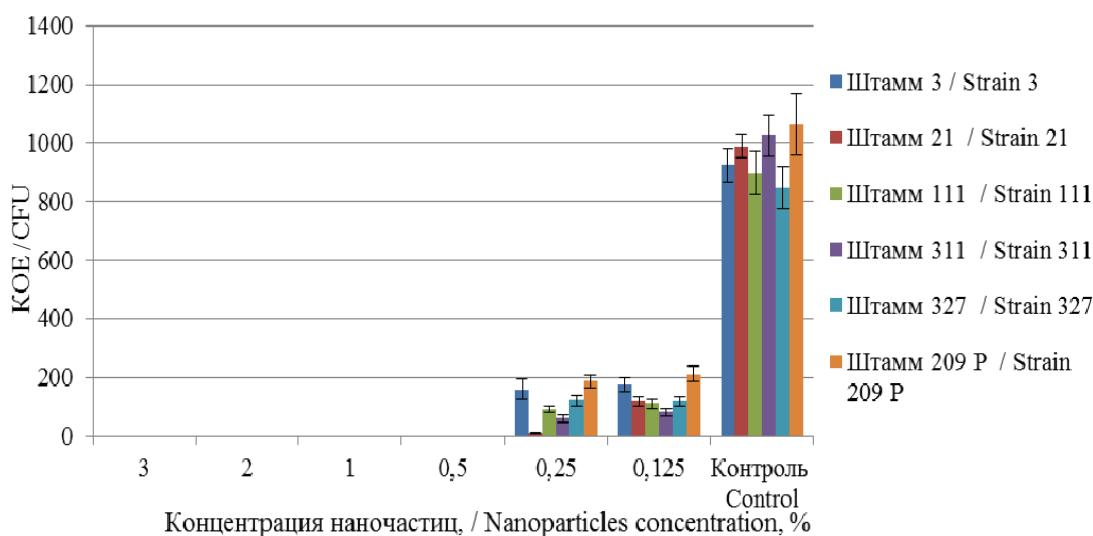


Рис. 5. Влияние наночастиц Ag/PG-m/W 500 на количественные показатели (КОЕ/чашка) штаммов *S. aureus* ($M \pm m$; $\chi^2 = 8,56$; $p \leq 0,05$)

Рис. 5. Effect of Ag/PG-m/W 500 Nanoparticles on CFU / Petri Dish of *S. aureus* Strains ($M \pm m$; $\chi^2 = 8,56$; $p \leq 0,05$) (color online)

Полученные результаты показали, что наночастицы серебра характеризуются антимикробной активностью в отношении стандартных и клинических штаммов *S. aureus*, которая носит дозозависимый характер и зависит от используемого стабилизатора. Важно отметить, что при производстве препаратов, содержащих наночастицы металлов, использование стабилизаторов является его неотъемлемой частью, поскольку покрытие полимерным соединением поверхности наночастиц препятствует их слипанию и способствует сохранению их величины в наноразмерном диапазоне. Низкий уровень антимикробной активности Ag/OleNa, вероятно, связан с низкой стабилизирующей эффективностью олеата натрия, поскольку оценка гидродинамического размера и динамика агрегации наночастиц показали высокую скорость этого процесса [17].

Чувствительность исследуемых штаммов *S. aureus* к действию наночастиц серебра, стабилизованных додецилсульфатом натрия, связана с высокой токсичностью стабилизатора, которая была ранее установлена для него в от-

ношении биотест-объектов и культуры клеток дермальных фибробластов человека [17–19].

Для других полимеров, используемых в качестве стабилизаторов наночастиц, ранее был установлен низкий уровень токсичности [17–19].

Таким образом, оценка антимикробного действия наночастиц серебра, стабилизованных натуральными и синтетическими полимерами, позволила установить, что наиболее перспективными для дальнейших исследований являются наночастицы серебра, стабилизированные полиазолидинаммонием, модифицированным гидрат-ионами йода. Для данного препарата показан высокий уровень антибактериальной активности в отношении стандартного и клинических штаммов *S. aureus* и низкий уровень токсичности, что позволяет рекомендовать его в качестве эффективного и безопасного антимикробного компонента при разработке антисептических средств для профилактической обработки кожных покровов и лечения гнойно-инфекционных поражений кожи, вызванных чувствительными микроорганизмами.

Список литературы

1. Сидоренко С. В., Агапова Е. Д., Александрова И. А. Перекрестная и ассоциированная антибиотикорезистентность грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, устойчивых к цефалоспоринам 3 поколения // Антибиотики и химиотерапия. 2008. Т. 53, № 1–2. С. 3–10.
2. Страчунский Л. С., Белькова Ю. А., Дехнич А. В. Внебольничные MRSA – новая проблема антибиотикорезистентности // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2005. Т. 7, № 1. С. 32–46.
3. Bell B. G., Schellevis F., Stobberingh E., Goossens H., Pringle M. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance // BMC Infectious Diseases. 2014. Vol. 13. P. 2–25.
4. ВОЗ. Устойчивость к антибиотикам – серьезная угроза общественному здравоохранению : выпуск новостей // ВОЗ. 2014. 30 апреля. URL: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/ru/>
5. Панин А. Н. Проблема резистентности к антибиотикам возбудителей болезней, общих для человека и животных // Ветеринария и зоотехния: ветеринария. 2017. № 5. С. 18–24.
6. Larson E. Community Factors in the Development of Antibiotic Resistance // Annual Review of Public Health. 2007. Vol. 28. P. 435–447.
7. Weese J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : an emerging pathogen in small animals // J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 2005. Vol. 41. P. 150–157.
8. Захаров А. В., Хохлов А. Л., Эргешов А. Э. Наночастицы серебра в решении проблемы лекарственной устойчивости возбудителя туберкулоза // Архив внутренней медицины. 2017. № 3. С. 188–199.
9. Мосин О. В. Бактерицидные свойства наночастиц коллоидного серебра // Нанотехнологии. Экология. Производство. 2013. № 6. С. 54–59.
10. Честнова Т. В., Серегина Н. В., Хромушин В. А. Обзор биофизических особенностей микробной адгезии // Вестник новых медицинских технологий. 2008. Т. 15, № 4. С. 175–178.
11. Захаров А. В., Хохлов А. Л. Исследование активности наночастиц серебра *in vitro* и *in vivo* в отношении лекарственно-устойчивых штаммов *Mycobacterium tuberculosis* // Вестник ВолгГМУ. 2018. Т. 3, № 67. С. 43–46.
12. Randall C. P., Oyama L. B., Bostock J. M., Chopra I., O'Neill A. J. The silver cation (Ag⁺) : antistaphylococcal activity, mode of action and resistance studies // J. Antimicrob. Chemother. 2013. № 68. P. 131–138.
13. Шаповал О. Г., Нечаева О. В., Шульгина Т. А., Пучиньян Д. М., Шуршалова Н. Ф. Влияние металлических и углеродных наноструктур на адгезивные свойства грамотрицательных бактерий // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 6. С. 1379.
14. Chen X., Schluesener H. J. Nanosilver : a nanoproduct in medical application // Toxicol. Lett. 2008. № 176. P. 359–362.
15. Prabhu S., Poulose E. K. Silver nanoparticles : mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects // International Nano Letters. 2012. Vol. 2. P. 32. DOI: 10.1186/2228-5326-2-32
16. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам // МУК 4.2.1890-04. М. : Изд. отд. Федерального центра Госсанэпиднадзора Минздрава РФ, 2004. 91 с.
17. Шульгина Т. А., Верховский Р. А., Нечаева О. В., Торгашова А. С. Изучение токсического воздействия наноразмерных частиц серебра на культуру клеток дермальных фибробластов человека // Нанотехнологии в современных материалах технологического и биомедицинского назначения : материалы науч.-практ. семинара. Севастополь : Изд-во Севастоп. гос. ун-та, 2018. С. 35–38.
18. Чапок Д. А., Нечаева О. В. Оценка токсичности наночастиц серебра методом биоиндикации // Экология городской среды : история, современность и перспективы : сб. ст. Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Астрахань : Астраханский университет, 2018. С. 67–69.
19. Верховский Р. А., Шульгина Т. А., Нечаева О. В., Торгашова А. С. Цитотоксическое воздействие наночастиц серебра на культуру клеток NHDF // Проблемы медицинской микологии. 2018. Т. 20, № 2. С. 58.

Образец для цитирования:

Шульгина Т. А., Глинская Е. В., Нечаева О. В., Торгашова А. С., Зубова К. В. Оценка влияния наночастиц серебра, стабилизованных полимерными соединениями, на выживаемость штаммов *Staphylococcus aureus* // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 331–337. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-331-337>

Assessment of the Impact of the Nanoparticles of Silver Stabilized by Polymeric Compounds on Survival of Strains of *Staphylococcus aureus*

T. A. Shulgina, E. V. Glinskaya, O. V. Nечаева,
A. S. Torgashova, K. V. Zubova

Tatiana A. Shulgina, <https://orcid.org/0000-0003-3945-5910>, Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of the Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, 148 Chernyshevsky St., Saratov 410002, Russia, tshylgina2012@yandex.ru

Elena V. Glinskaya, <https://orcid.org/0000-0002-1675-5438>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, elenav-2007@yandex.ru

Olga V. Nечаева, <https://orcid.org/0000-0003-3331-1051>, Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, 77 Polytechnicheskaya St., Saratov 410054, Russia, olgav.nechaeva@rambler.ru

Anna S. Torgashova, <https://orcid.org/0000-0003-0996-6840>, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, 112 Bol'shaya Kazachia St., Saratov 410012, Russia, gekon_toki@mail.ru

Ksenia V. Zubova, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, zubovaksushechka@mail.ru

The antimicrobial activity of the nanoparticles of silver stabilized by various natural and synthetic polymeric compounds concerning reference and clinical strains of *Staphylococcus aureus* is studied. It is established that the greatest effectiveness was displayed by the silver nanoparticles stabilized by polyvinyl alcohol, carboxymethylcellulose and poliazolidinammonium, the modified iodine hydrate ions. The low sensitivity of the studied strains to action of the nanoparticles stabilized by an oleate of *S. aureus* sodium probably is connected by its low stabilizing ability and high speed of aggregation of nanoparticles. The high level of toxicity of dodecyl sulphate sodium led to an increase in its antimicrobial activity. The conducted researches allowed us to establish that the most effective antimicrobial components when developing antiseptic and disinfectants are the silver nanoparticles stabilized poliazolidinammonium, modified iodine hydrate ions.

Keywords: silver nanoparticles, stabilizers, antimicrobial activity, *Staphylococcus aureus*.

References

1. Sidorenko S. V., Agapova E. D., Aleksandrova I. A. Cross and associated antibiotic resistance gram negative bacteria of the Enterobacteriaceae family resistant to cephalosporin 3 generations. *Antibiotics and Chemotherapy*, 2008, vol. 53, no. 1–2, pp. 3–10 (in Russian).
2. Strachunskii L. S., Belkova Iu. A., Dekhnich A. V. Community-Based MRSA – a New Antibiotic Resistance Problem. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 2005, vol. 7, no. 1, pp. 32–46 (in Russian).
3. Bell B. G., Schellevis F., Stobberingh E., Goossens H., Pringle M. A systematic review and meta-analysis of the effects of antibiotic consumption on antibiotic resistance. *BMC Infectious Diseases*, 2014, vol. 13, pp. 2–25.
4. VOZ. *Ustoychivost' k antibiotikam – ser'eznaya ugroza obshchestvennomu zdraivozdravleniyu: vypusk novostey* [WHO. Antibiotic resistance is a serious public health threat: news release]. VOZ, 2014, 30 aprelya [WHO, 2014, 30 April]. Available at: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/ru/> (in Russian).
5. Panin A. N. The problem of antibiotic resistance of pathogens common to humans and animals. *Veterinary Science and Zootechnics: Veterinary Science*, 2017, no. 5, pp. 18–24 (in Russian).
6. Larson E. Community Factors in the Development of Antibiotic Resistance. *Annual Review of Public Health*, 2007, vol. 28, pp. 435–447.
7. Weese J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging pathogen in small animals. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 2005, vol. 41, pp. 150–157.
8. Zakharov A. V., Khokhlov A. L., Ergeshov A. E. Silver nanoparticles in solving the problem of drug resistance of the causative agent of tuberculosis. *Archive of Internal Medicine*, 2017, no. 3, pp. 188–199 (in Russian).
9. Mosin O. V. Bactericidal properties of colloidal silver nanoparticles. *Nanotechnology. Ecology. Production*, 2013, no. 6, pp. 54–59 (in Russian).
10. Chestnova T. V., Seregina N. V., Khromushin V. A. A review of the biophysical features of microbial adhesion. *Bulletin of New Medical Technologies*, 2008, vol. 15, no. 4, pp. 175–178 (in Russian).
11. Zakharov A. V., Khokhlov A. L. Investigation of the activity of silver nanoparticles *in vitro* and *in vivo* in relation to drug-resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of VolgSMU*, 2018, vol. 3, no. 67, pp. 43–46 (in Russian).
12. Randall C. P., Oyama L. B., Bostock J. M., Chopra I., O'Neill A. J. The silver cation (Ag<+>): antistaphylococcal activity, mode of action and resistance studies. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2013, no. 68, pp. 131–138.
13. Shapoval O. G., Nechaeva O. V., Shulgina T. A., Puchinian D. M., Shurshalova N. F. The effect of metal and carbon nanostructures on the adhesive properties of gram-negative bacteria. *Modern Problems of Science and Education*, 2014, no. 6, p. 1379 (in Russian).
14. Chen X., Schluesener H. J. Nanosilver: a nanoproduct in medical application. *Toxicol. Lett.*, 2008, no. 176, pp. 359–362.
15. Prabhu S., Poulose E. K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2012, vol. 2, pp. 32. DOI: 10.1186/2228-5326-2-32
16. *Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam. MUK 4.2.1890-04* [Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. MUK 4.2.1890-04]. Moscow, Izdatel'skij otdel Federal'nogo centra Gossanepidnadzora Minzdrava RF, 2004. 91 p. (in Russian).
17. Shulgina T. A., Verkhovskii R. A., Nechaeva O. V., Torgashova A. S. Study of the toxic effects of nanoscale silver particles on human dermal fibroblast cell culture. In: *Nanotekhnologii v sovremennyh materialah tekhnologicheskogo i biomedicinskogo naznacheniya* [Nanotechnology in modern materials for technological and biomedical purposes. Coll. materials of a sci. and pract. seminar]. Sevastopol, Izd-vo Sevastopol. gos. un-ta, 2018, pp. 35–38 (in Russian).
18. Tsapok D. A., Nechaeva O. V. Toxicity assessment of silver nanoparticles by bioindication. In: *Ekologiya gorodskoy sredy: istoriya, sovremenost' i perspektivy* [Ecology of the urban environment: history, modernity and prospects. Coll. of articles of the All-Russian sci. pract. conf. with intern. participation]. Astrakhan, Astrakhanskij un-t, 2018, pp. 67–69 (in Russian).
19. Verkhovskii R. A., Shulgina T. A., Nechaeva O. V., Torgashova A. S. The cytotoxic effect of silver nanoparticles on the culture of NHDF cells. *Problems of Medical Mycology*, 2018, vol. 20, no. 2, pp. 58 (in Russian).

Cite this article as:

Shulgina T. A., Glinskaya E. V., Nechaeva O. V., Torgashova A. S., Zubova K. V. Assessment of the Impact of the Nanoparticles of Silver Stabilized by Polymeric Compounds on Survival of Strains of *Staphylococcus aureus*. *Izv. Saratov Univ. (N. S.)*, Ser. Chemistry. Biology. Ecology, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 331–337 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-331-337>



УДК 639.2

Коэффициент пополнения промыслового запаса сома от выпуска его молоди навеской 2 грамма в водоемах Волжско-Каспийского рыбохозяйственного бассейна

В. П. Ермолин

Ермолин Владимир Павлович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Саратовского отделения ФГБНУ «ГосНИОРХ», gosniorh@mail.ru

Отмечено практическое значение коэффициента промыслового пополнения запасов рыб, многообразие его использования в разных направлениях рыбохозяйственных исследований, проектных работах, при проведении восстановительных мероприятий и принятии управленческих решений. Для многих видов рыб сведений по рассматриваемому показателю нет. В эту категорию попадает и ценный промысловый вид – сом. В то же время в связи с выполнением больших объемов разного рода работ на водоемах и, соответственно, проведением восстановительных мероприятий, где в качестве объекта компенсации ущерба рекомендуется использовать сома, необходимы сведения о коэффициенте пополнения его промыслового запаса. В данной работе, по материалам многолетних наблюдений (1953–2017 гг.) возрастного и размерного состава популяции, среднего размера и возраста в уловах, с использованием коэффициентов естественной, промысловой и общей смертностей впервые определен коэффициент промыслового пополнения запасов сома от выпуска его молоди навеской 2 грамма в водоемах Волжско-Каспийского рыбохозяйственного бассейна. Показано, что коэффициент промыслового пополнения запасов рыб зависит от размера водоема. Для сома в водоемах водной площадью менее 10 тыс. га он может быть принят равным 0.6%, для более крупных водоемов – 0.4%.

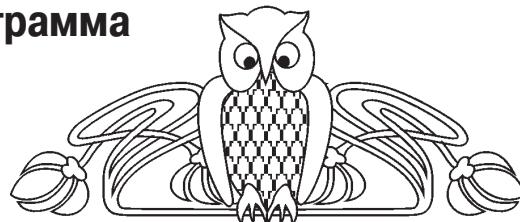
Ключевые слова: сом, коэффициент промыслового пополнения запасов, Волжский бассейн, Волгоградское водохранилище.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-338-342>

Введение

Коэффициент пополнения промыслового запаса (коэффициент промвозврата) – один из основных показателей, используемых для решения широкого круга задач. Особенно велико его значение для исчисления размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам при осуществлении планируемой хозяйственной и иной деятельности на водных объектах рыбохозяйственного значения, в водоохраных, рыбоохраных и рыбохозяйственных заповедных зонах, а также затрат на восстановление нарушенного состояния водных биоресурсов [1].

Расчет размера вреда водным биоресурсам и затрат на восстановление их нарушенного состояния выполняется при:



– планировании строительства, реконструкции, капитального ремонта объектов капитального строительства, размещения объектов хозяйственной и иной деятельности, внедрения новых технологических процессов и производства работ (далее – намечаемая деятельность), влияющих на состояние водных биологических ресурсов и среду их обитания, с целью оценки возможных последствий негативного воздействия указанной деятельности на состояние водных биоресурсов;

– оценке рисков и экологическом страховании;

– оценке возможных (прогнозных) последствий нештатных и аварийных ситуаций (разрыв трубопроводов, прорыв шламохранилищ, размыв отвалов пустой породы, разлив нефти).

Коэффициент пополнения промыслового запаса широко используется при составлении (ОВОС), при выполнении ежегодного государственного задания «Биологическое обоснование общих допустимых уловов (ОДУ) и рекомендованного вылова (РВ) для водных биоресурсов во внутренних водах Российской Федерации», биологических обоснований при выполнении рыбоводных работ и пастбищной аквакультуры на водоемах разного типа и др.

Приведенный (далеко не полный) список направлений работ с применением коэффициента пополнения промыслового запаса убедительно показывает его важное практическое значение. Вместе с тем сведений по данной категории для многих видов (ВБР) крайне мала, а для отдельных видов они практически отсутствуют. В качестве примера можно привести широко распространенного в пресноводных водоемах России и Западной Европы обыкновенного (европейского) сома (*Silurus glanis* Linnaeus, 1758) [2].

Материалы и методы

Сом – один из наиболее коммерчески ценных видов рыб водоемов Волжско-Каспийского бассейна [3]. Литературных сведений о коэффициенте пополнения промыслового запаса от выпуска



его молоди по водоемам указанного бассейна нет. В то же время в связи с выполнением больших объемов разного рода работ на водоемах и, соответственно, проведением восстановительных мероприятий, где в качестве объекта компенсации ущерба рекомендуется использовать сома, необходимы сведения о коэффициенте пополнения его промыслового запаса.

Среди водохранилищ Волги сом наиболее многочислен в Волгоградском водохранилище. Регулярные наблюдения за этим видом в Волгоградском водохранилище ведутся с 1953 г. За прошедший период (1953–2017 гг.) достаточно подробно были изучены закономерности воспроизводства, питания, роста, динамики численности, коэффициенты естественной и промысловой смертности и другие вопросы. В связи со снижением численности с 1994 г. в водохранилище периодически выпускается молодь сома средней навеской около 2 г, как по линии государственного планового задания, так и в счет компенсации ущерба.

Для оценки коэффициента пополнения промыслового запаса использованы материалы по сому Волгоградского водохранилища, получаемые нами ежегодно при проведении мониторинговых работ, при выполнении государственного задания по оценке запасов ВБР, разработке ОДУ и РВ. Для решения поставленной задачи необходимы величины коэффициентов естественной, промысловой и общей смертности, минимальный промысловый размер добываемых (вылавливаемых) ВБР (промысловая мера). Коэффициенты естественной (е. см. *K*), промысловой (пр. см. *K*) и общей (общ. см. *K*) смертности сома в Волгоградском водохранилище достаточно подробно изучены Т. К. Небольсиной [4]. Промысловая мера на сома установлена правилами рыболовства – 90 см (Правила рыболовства Волжско-Каспийского рыбохозяйственного бассейна. Приказ от 18 ноября 2014 г. № 453 (в ред. Приказов Минсельхоза России от 26.05.2015 № 214, от 12.01.2016 № 1, от 19.04.2016 № 153, от 27.07.2017 № 371, от 18.04.2018 № 164)).

Результаты и их обсуждение

Для достижения поставленной цели важно определить опорные точки, по которым будет оцениваться коэффициент пополнения промыслового запаса. Для этого обратимся к основным теоретическим предпосылкам определения промзапаса, ОДУ и РВ.

В XIX и первой половине XX в. многие исследователи придерживались мнения, что

рыба хотя бы раз в жизни должна отнереститься [5–8]. Промысловая мера, промзапас, ОДУ и РВ устанавливались в соответствии с данным постулатом.

Во второй половине XX в. в связи с необходимостью оптимизации использования сырьевых ресурсов крупных водоемов (в частности, водохранилищ) и накоплением материала эта точка зрения была изменена. Упор был сделан на эколого-биологический принцип [7, 17–23 и др.], теоретические предпосылки и основа которого заключаются в том, что вылову подлежит рыба такого размера и возраста, при котором обеспечивается наибольшая продукция высокого товарного качества и наиболее рационально используются кормовые ресурсы водоема. При этом учитываются продолжительность жизни рыб, темп естественной смертности, сроки созревания популяции и темп роста [10, 15, 16]. Промысловая мера, промзапас, ОДУ и РВ стали устанавливать в соответствии с новым постулатом. При таком подходе в качестве опорных точек при определении коэффициента пополнения промыслового запаса могут быть приняты промысловая мера, средний возраст и размер сома в промвозврате.

Промыслового размера (90 см) сом достигает в массе в 9 лет (8+) при среднем весе 11 кг. Он показывает, при каком минимальном возрасте (размере) может быть определен коэффициент пополнения промыслового запаса, что возможно, если величина ежегодного изъятия близка или равна ежегодному пополнению промыслового запаса. В реальности вылов складывается из ряда возрастных групп (для сома Волгоградского водохранилища до 15 возрастных групп). В этом случае следует ориентироваться на средний возраст рыб в уловах.

Средний возраст и размер сома в промвозврате может быть определен по возрастному составу промысловых уловов и среднему весу рыб в возрастных группах. Для установления состава промысловых уловов сома в Волгоградском водохранилище воспользуемся данными, полученными в 2013–2017 гг. При среднегодовом улове 20,1 т (2013 г. – 28,3 т, 2014 г. – 17 т, 2015 г. – 16,6 т, 2016 г. – 16,3 т, 2017 г. – 22,2 т), или 1295 экз., вылов и доля отдельных возрастных групп в вылове представлены в табл. 1.

По данным табл. 1, модальная численность сома в промысловом улове приходится на возраст 11 лет (10+) и совпадает со средним возрастом сома в промысловых уловах в Волгоградском водохранилище в настоящий период (средняя длина 100 см, масса – 15,6 кг).

Таблица 1 / Table 1

Состав промысловых уловов сома в Волгоградском водохранилище в 2013–2017 гг.
The composition of commercial stock of catfish in Volgograd reservoir in 2013–2017

Возрастные группы и группы запаса / Age and stock groups	Состав / Composition	
	Экз. / Instances	%
5+	32	2,5
6+	65	5,0
Молодь / Juvenile fishes	97	7,5
7+	131	10,1
Резерв / Reserve	131	10,1
8+	171	13,2
Пополнение / Recruitment	171	13,2
9+	174	13,4
10+	196	15,1
11+	175	13,5
12+	146	11,3
13+	115	8,9
14+	61	4,7
15+	19	1,5
16+	10	0,8
Остаток / Surplus	896	69,2
Всего / Total	1295	100

Таким образом, существует две опорные точки, по которым может быть определен коэффициент пополнения промыслового запаса:

возраст рыб, соответствующий промысловой мере (9 лет), и средний возраст сома в промысловом улове (11 лет). Расчет коэффициента пополнения промыслового запаса ведем по достижении наибольшего значения опорных точек – 11 лет (10+), – используя показатели смертности: K е. см., K пр. см. и K общ. см. Общая смертность (K общ. см.) – это сумма промысловой и скорректированной естественной смертности.

Расчет проведен при выпуске 10 тыс. экземпляров, что удобно для определения коэффициента пополнения промыслового запаса. Расчет показывает, что при выпуске молоди сома навеской 2 г до промыслового размера доживет 0,6% рыб, а до модального возраста (размера) в уловах – 0,4% от объема выпуска (табл. 2), что составит объем возможного промыслового изъятия от выпуска, или коэффициент пополнения промыслового запаса.

Следует отметить, что модальный возраст (размер) сома в уловах колеблется в зависимости от размера водоема. В малых водоемах (водохранилищах менее 10 тыс. га) сом имеет меньшие возрастной и размерный ряды, и соответственно, модальный возраст и размер его в улове меньше. Так, в Пронском водохранилище (Рязанская область, Волжский бассейн) водной площадью 1,5 тыс. га модальный размер сома в улове практически равен его промысловому размеру (90 см).

Таблица 2 / Table 2

Расчет промвозврата сома при выпуске в Волгоградское водохранилище сеголетками средней навеской 2 грамма
Calculation of the catfish sludge return when released into the Volgograd reservoir as fingerlings of an average weight of 2 grams

Возраст, лет / Age, years	Показатели смертности / Mortality value, %			Численность выживших в возрастных группах рыб, экз. / The number of survivors in agegroups of fish, specimen	Коэффициент пополнения промзапаса, % / Stock replenishment rate, %
	K е. см. / Natural mortality	K пр. см. / Fishing mortality	K общ. см. / Total mortality		
0+	80		80	2000	
1+	62		62	760	
2+	52		52	365	
3+	43		43	208	
4+	34		34	137	
5+	26	2	28	99	
6+	18	2	20	79	
7+	13	3	16	66	
8+	10	4	14	57	0,6
9+	8	7	15	48	
10+	8	8	16	40	0,4

Исходя из сказанного коэффициент пополнения промыслового запаса сома для оценки вреда и объема компенсационных мероприятий

при выпуске его молоди навеской 2 г в водоемы менее 10 тыс. га можем принять равным 0,6%, для водоемов более 10 тыс. га – равным 0,4%.



Список литературы

- Методика исчисления размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам : приказ Росрыболовства № 1166 от 25 ноября 2011 года. Зарегистрировано в Минюсте РФ 5 марта 2012 г. М., 2011. 62 с.
- Аннотированный каталог круглоротых и рыб континентальных вод России. М. : Наука, 1998. 220 с.
- Промыловые рыбы России : в 2 т. / под ред. О. Ф. Гриценко, А. Н. Котляра, Б. Н. Котенева. М. : ВНИРО, 2006. Т. 1. 656 с.
- Небольсина Т. К. Экосистема Волгоградского водохранилища и пути создания рационального рыбного хозяйства : дис. ... д-ра биол. наук. Саратов, 1980. 367 с.
- Бэр К. М. Исследования о состоянии рыболовства в России. Т. II. СПб., 1860. 626 с.
- Бэр К. М. Исследования о состоянии рыболовства в России. Т. III. СПб., 1861. 498 с.
- Бэр К. М. Исследования о состоянии рыболовства в России. Т. IV, V. СПб., 1867. 587 с.
- Данилевский Н. Я. Исследования о состоянии рыболовства в России. Т. 9. СПб., 1875. 151 с.
- Никольский Г. В. О биологических основах регулирования рыболовства // Вопр. ихтиологии. 1958. № 11. С. 3–15.
- Тюрин П. В. Биологические обоснования регулиро-
- вания рыболовства на внутренних водоемах. М. : Пищепромиздат, 1963. 119 с.
- Тюрин П. В. Биологические обоснования оптимального коэффициента вылова и допустимого предела прилова молоди ценных рыб // Тр. ВНИРО, 1967. 62 с.
- Тюрин П. В. «Нормальные» кривые переживания и темпов естественной смертности рыб как теоретическая основа регулирования рыболовства // Изв. ГосНИОРХ. 1972. Т. 71. С. 71–128.
- Бердичевский Л. С. Биологические основы рациональной эксплуатации рыбных запасов // Тр. ВНИРО. 1969. Т. 67. С. 10–31.
- Лапицкий И. И. Направленное формирование ихтиофауны и управление численностью популяций рыб в Цимлянском водохранилище // Тр. Волгоград. отд-ния ГосНИОРХ. 1970. Т. 4. 280 с.
- Кожевников Г. П., Негоновская И. Т. Биологические основания к изменению действующих Правил рыболовства на волжско-камских водохранилищах // Биологические основания к усовершенствованию действующих правил рыболовства на водохранилищах волжско-камского каскада. Л. : Б. и., 1984. С. 33–46.
- Никольский Г. В. О биологическом обосновании контингента вылова и путях управления численностью стад рыб // Зоол. журнал. 1950. Т. XXIX, вып. 1. С. 16–26.

Образец для цитирования:

Ермолин В. П. Коэффициент пополнения промыслового запаса сома от выпуска его молоди навеской 2 грамма в водоемах Волжско-Каспийского рыбохозяйственного бассейна // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 338–342. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-338-342>

The Coefficient of Replenishment for the Commercial Stock of Catfish from the Release of Its Juvenile by Weighing Batch of 2 Grams in the Reservoirs of the Volga-Caspian Fishery Basin

V. P. Ermolin

Vladimir P. Yermolin, <https://orcid.org/0000-0002-9971>, FSBSI "GosNIORH", Saratov Department, 152 Chernyshevskogo St., Saratov 410002, Russia, gosniorh@mail.ru

The practical value of the coefficient of commercial replenishment of fish stocks, due to the variety of its use in different areas of fisheries research, design work, restoration activities, and management decisions was highlighted. For many species of fish there is no information on the indicator under consideration. Catfish, one of the valuable commercial species, is included in this category. At the same time, in connection with the implementation of large volumes of various kinds of work on water bodies, and, accordingly, the restoration activities, where the object of compensation for damage is recommended to use catfish, information is needed on the coefficient of replenishment of its commercial stock. This paper presents the first attempt of determination the coefficient for commercial replenishment of catfish from the release of its juvenile by weighing batch of 2 grams in the waters of the Volga- Caspian fisheries

basin. The calculation is based on long-term observations (1953–2017) of the age and size of the population, the average size and age in the catches, using the coefficients of natural, commercial and total mortality. It is shown that the coefficient of commercial replenishment of fish stocks depends on the size of the reservoir. For catfish in water bodies with an area of less than 10 thousand ha it can be accepted as equal to 0.6%, and for larger reservoirs – 0.4%.

Keywords: catfish, coefficient of commercial replenishment, Volga basin, Volgograd reservoir.

Reference

- Методика исчисления размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам: приказ Росрыболовства от 25 ноября 2011 г. № 1166 «Об утверждении Методики исчисления размера вреда, причиненного водным биологическим ресурсам». Зарегистрировано в Минюсте РФ 5 марта 2012 г. № 23404 [Methods of calculating the amount of harm caused to water biological resources (Annex to the order of Rosrybolovstvo of November 25, 2011 № 1166 “On approval of the Methodology for calculating the amount of harm caused to water biological resources”). Registered in the Ministry of justice March 5, 2012, number 23404] (in Russian).

2. *Annotirovanny katalog kruglorotykh i ryb kontinental'nykh vod Rossii* [Annotated catalogue of round-necked and fish of continental waters of Russia]. Moscow, Nauka Publ., 1998. 220 p. (in Russian).
3. *Promyslovye ryby Rossii: v 2 t.* [Commercial Fish of Russia. In 2 vols.]. Ed. by O. F. Gritsenko, A. N. Kotlyar, B. N. Koteneva. Moscow, VNIRO, 2006, vol. 1. 656 p. (in Russian).
4. Nebol'sina T. K. *Ekosistema Volgogradskogo vodohranilishcha i puti sozdaniya rational'nogo rybnogo hozyajstva: dis. ... d-ra biol. nauk* [Ecosystem of the Volgograd reservoir and ways to create a rational fisheries. Diss. Dr. Sci. (Biol.). Saratov, 1980. 367 p. (in Russian).
5. Ber K. M. *Issledovaniya o sostoyanii rybolovstva v Rossii. T. II. Izdany Ministerstvo gosudarstvennyh imushchestv* [Studies on the state of fishing in Russia. Vol. II. Published by the Ministry of state property]. St. Petersburg, Tipografiya V. Bezobrazova i komp., 1860. 626 p. (in Russian).
6. Ber K. M. *Issledovaniya o sostoyanii rybolovstva v Rossii. T. III. Izdany Ministerstvom gosudarstvennyh imushchestv* [Research on the state of fishing in Russia. Vol. III. Published by the Ministry of state property]. St. Petersburg, Tipografiya V. Bezobrazova i komp., 1861. 498 p. (in Russian).
7. Ber K. M. *Issledovaniya o sostoyanii rybolovstva v Rossii. T. V. Izdany Ministerstvom gosudarstvennyh imushchestv* [Research on the state of fishing in Russia. Vol. V. Published by the Ministry of state property]. St. Petersburg, Tipografiya V. Bezobrazova i komp., 1867. 587 p. (in Russian).
8. Danilevskiy N. Ya. *Issledovaniya o sostoyanii rybolovstva v Rossii. T. 9. Izdany Ministerstvom gosudarstvennyh imushchestv* [Research on the state of fishing in Russia. Vol. 9. Published by the Ministry of state property]. St. Petersburg, Tipografiya V. Bezobrazova i komp., 1875. 151 p. (in Russian).
9. Nikol'skiy G. V. O biologicheskikh osnovakh regulirovaniya rybolovstva [About biological bases of regulation of fishery]. *Voprosy ihtiologii* [Vopr. ichthyologies], 1958, no. 11, pp. 3–15 (in Russian).
10. Tyurin P. V. *Biologicheskie obosnovaniya regulirovaniya rybolovstva na vnutrennih vodoemakh* [Biological substantiation of regulation of fishing in inland waters]. Moscow, Pishchepromizdat, 1963. 119 p. (in Russian).
11. Tyurin P. V. *Biologicheskie obosnovaniya optimal'nogo koeffitsienta vylova i dopustimogo predela prilova molodi cennyyh ryb* [Biological substantiation of the optimum catching coefficient and the allowable limit bycatch of juveniles of valuable fish]. *Trudy VNIRO* [Trudy VNIRO], 1967. 62 p. (in Russian).
12. Tyurin P. V. «Normal'nye» krivye perezhivaniya i tempov estestvennoj smertnosti ryb kak teoreticheskaya osnova regulirovaniya rybolovstva [“Normal” curves of experience and rates of natural mortality of fish as a theoretical basis of fishery regulation]. *Izv. GosNIORH*, 1972, vol. 71, p. 71–128 (in Russian).
13. Berdichevskiy L. S. *Biologicheskie osnovy ekspluatatsii rybnykh zapasov* [Biological bases of exploitation of fish stocks]. *Trudy VNIRO*, 1969, vol. 67, pp. 10–31 (in Russian).
14. Lapickiy I. I. *Napravlennoe formirovaniye ihtiofauny i upravlenie chislennost'yu populatsiy ryb v Tsimlyanskem vodohranilische* [Directed formation of ichthyofauna and management of fish populations in the Tsimlyansk reservoir]. *Tr. Volgogradskogo otd. GosNIORH*, 1970, vol. 4. 280 p. (in Russian).
15. Kozhevnikov G. P., Negonovskaya I. T. *Biologicheskie osnovaniya k izmeneniyu deystvuyuschikh Pravil rybolovstva na volzhsko-kamskikh vodokhranilishchakh* [Biological reason to change existing fishing Rules for the Volga-Kama reservoirs]. In: *Biologicheskie osnovaniya k usovershenstvovaniyu deystvuyuschikh pravil rybolovstva na vodohranilischakh volzhsko-kamskogo kaskada* [Biological Foundation for the improvement of current fishing regulations on the reservoirs of the Volga-Kama cascade]. Leningrad, B. i., 1984, pp. 33–46 (in Russian).
16. Nikol'skiy G. V. O biologicheskikh obosnovaniy kontingenta vylova i putyakh upravleniya chislennost'yu stad ryb [Biological substantiation of the contingent of the catch and the ways of controlling the number of fish stocks]. *Zool. zhurnal* [Zoolog. Journal], 1950, no. 29, iss. 1, pp. 16–26 (in Russian).

Cite this article as:

Ermolin V. P. The Coefficient of Replenishment for the Commercial Stock of Catfish from the Release of Its Juvenile by Weighing Batch of 2 Grams in the Reservoirs of the Volga-Caspian Fishery Basin. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 338–342 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-338-342>



УДК 616.98:579.841.95(470)

Современный кадастр переносчиков и других резервуаров туляремийного микробы в очагах разных типов этой инфекции на территории России

М. А. Тарасов, А. М. Поршаков, Л. В. Казакова, У. А. Кресова, Р. А. Романов, А. А. Слудский

Тарасов Михаил Алексеевич, зоолог, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области» Роспотребнадзора России, Саратов, доктор биологических наук, fbuz@gigiena-saratov.ru

Поршаков Александр Михайлович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, ram_82@mail.ru

Казакова Лариса Васильевна, главный врач, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области» Роспотребнадзора России, Саратов, fbuz@gigiena-saratov.ru

Кресова Ульяна Алексеевна, кандидат медицинских наук, заведующий отделом обеспечения эпидемиологического надзора, Федеральное ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области» Роспотребнадзора России, Саратов, fbuz@gigiena-saratov.ru

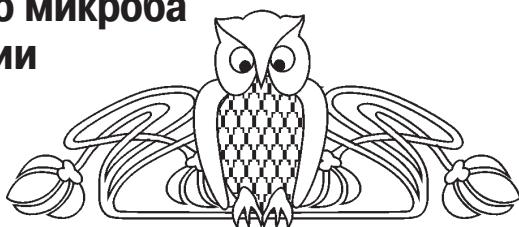
Романов Роман Алексеевич, зоолог, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области» Роспотребнадзора России, Саратов, fbuz@gigiena-saratov.ru

Слудский Александр Аркадьевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, rusrapi@microbe.ru

На современном этапе исследований по типам очагов можно распределить лишь иксодовых клещей – основных кровососущих переносчиков возбудителя туляремии. Остальные кровососущие членистоногие в связи с обилием их видов, широким распространением и определенной эвритопностью могут быть переносчиками туляремии в нескольких или даже во всех типах очагов. К таким переносчикам относятся прежде всего гамазовые и аргасовые клещи, а также кровососущие насекомые. Приводятся сведения и о других животных, объектах внешней среды, которые в природных и антропоургических очагах могут быть резервуарами этой инфекции или индикаторами наличия туляремийного микробы (антигена) на энзоотичной территории. В 30–50-е гг. прошлого столетия были проведены первые исследования экологии туляремийного микробы в водных экосистемах. Эти исследования интенсифицировались в последующие годы. Показано, что туляремийный микробы циркулирует в водных биоценозах с непосредственным участием разных видов гидробионтов.

Ключевые слова: носители, переносчики инфекции, заражение водной среды возбудителем туляремии.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-343-349>



Количество видов – переносчиков туляремии очень велико, поэтому мы приводим лишь систематические группы реальных и потенциальных переносчиков этой инфекции, у представителей которых в разных очагах лабораторно подтвержден контакт с возбудителем. Огромное количество видов кровососущих членистоногих в очагах всех типов до сих пор не исследовано на туляремию.

Из переносчиков, собранных различными методами [1–4] на современном этапе исследований, по типам очагов можно распределить лишь иксодовых клещей – основных кровососущих переносчиков возбудителя туляремии [2–15]. Так, в очагах туляремии луго-полевого типа видовой состав иксодовых клещей (Ixodidae) представлен 16 видами: *Hyalomma marginatum*, *H. anatomicum*, *Dermacentor marginatus*, *D. niveus*, *D. reticulatus*, *D. silvarum*, *D. nuttalli*, *Haemaphysalis otophila*, *H. concinna*, *Boophilus annulatus*, *Rhipicephalus rossicus*, *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *R. schulzei*, *R. pumilio*, *R. bursa*.

В очагах степного типа видовой состав иксодовых клещей представлен 21 видом: *H. marginatum*, *H. plumbeum*, *H. detritum*, *H. scutipense*, *H. anatomicum*, *D. marginatus*, *D. niveus*, *D. silvarum*, *H. otophila*, *H. punctata*, *H. caucasica*, *H. sulcata*, *Boophilus annulatus*, *Ixodes laguri*, *I. crenulatus*, *R. rossicus*, *R. sanguineus*, *R. turanicus*, *R. schulzei*, *R. pumilio*, *R. bursa*.

В очагах пойменно-болотного типа видовой состав иксодид представлен семью видами: *H. anatomicum*, *H. concinna*, *I. ricinus*, *I. persulcatus*, *I. apronophorus*, *I. laguri*, *I. crenulatus*.

В очагах предгорно(горно)-ручьевого типа видовой состав иксодовых клещей представлен преимущественно тремя видами – *H. concinna*, *H. plumbeum*, *D. marginatus*.

В очагах лесного типа иксодиды представлены девятью видами: *H. plumbeum*, *D. marginatus*, *D. reticulatus*, *D. silvarum*, *D. nuttalli*, *I. ricinus*, *I. persulcatus*, *I. laguri*, *I. trianguliceps*.

В очагах тундрового типа иксодовые клещи представлены тремя видами: *I. ricinus*, *I. persulcatus*, *I. apronophorus*.

В синантропных (урбанических, антропоургических) очагах, в зависимости от прилегающих к ним природных биотопов (очагов туляремии других типов), переносчиками туляремии могут быть практически все виды вышеперечисленных иксодид, что является характерной особенностью очагов этого типа.

Остальные кровососущие членистоногие в связи с обилием видов, их широким распространением и определенной эвритопностью могут быть переносчиками туляремии в нескольких или даже во всех типах очагов. К таким переносчикам относятся прежде всего гамазовые и аргасовые клещи, а также кровососущие насекомые.

Из гамазовых клещей [16, 17] переносчиками туляремии во всех типах очагов являются: *Androlaelaps casalis*, *A. glasgoi*, *Laelaps multispinosus*, *L. muris*, *L. agilis*, *L. algericus*, *L. hilaris*, *L. clethrionomydis*, *Eulaelaps stabularis*, *Hyperlaelaps amphibious*, *H. arvalis*, *Myonyssus rossicus*, *Hirstionyssus isabellinus*, *H. musculi*, *H. myospalacis*, *H. isabellinus*, *H. ellobii*, *H. criceti*, *Ornithonyssus bacoti*, *Ophionyssus* sp., *Liponyssoides sanguineus*, *Dermanyssus hirundinis*, *Haemogamasus nidi*, *Hg. dauricus*, *Hg. serdjukovae*, *Hg. ambulans*, *Hypoaspis muris*, *Macrocheles decoloratus*.

Указанный кадастр видов гамазид – переносчиков туляремии далеко не исчерпывающий и при последующем изучении будет пополняться.

Из аргасовых клещей основными переносчиками туляремии являются *Ornithodoros papillipes*, *Argas persicus*, *Alveonasis lahorensis*.

Кровососущие насекомые – эффективные переносчики туляремии в очагах разного типа. Лабораторно подтвержден контакт с возбудителем представителей четырех отрядов: блохи (*Siphonaptera*) – *Amalareus penicilliger*, *Ctenophthalmus acuminatus*, *Ct. pollex*, *Ct. wagneri*, *Ct. agirtes*, *Ct. assimilis*, *Ct. orientalis*, *Ct. secundus*, *Ct. congeneroides truncus*, *Ct. arvalis*, *Citellophilus tesquorum*, *Amphipsylla rossica*, *Leptopsylla segnis*, *Neopsylla setosa*, *Nosopsyllus consimilis*, *N. fasciatus*, *N. mokrzeckyi*, *Xenopsylla cheopis*, *Pulex irritans*, *Megabothris walker*; пухоедовые (*Phthiraptera*) из трех родов – *Hoplopleura* sp., *Linognathoides* sp., *Pediculus* sp.; полужесткокрылые (*Hemiptera*) – постельный клоп (*Cimex lectularius*); двукрылые (*Diptera*): комары (*Culicidae*) – *Aedes vexans*, *Ae. cinereus*, *Ochlerotatus excrucians*, *Oc. communis*, *Oc. punctor*, *Oc. flavescentis*, *Oc. caspius*, *Culex modestus*, *Cx. pipiens*, *Coquillettidia richiardii*, *Anopheles hyrcanus*, *An. maculipennis*; слепни (*Tabanidae*) – *Chrysops relictus*, *Chrysops italicus*, *Tabanus bovinus*, *T. autumnalis*, *T. bromis*, *Atylotus flavoguttatus*, *Haemato-*

topota pluvialis; мошки (*Simuliidae*) – *Eusimulium rugitaeum*, *E. Titanopteryx maculata*; мокрецы (*Ceratopogonidae*) – *Culicoides pulicaris*.

Многие зараженные возбудителем туляремии эктопаразиты могут заражать носителя и алиментарным путем в процессе их поедания при попытках избавиться от кровососущих членистоногих (при комфортных формах поведения) [9].

С 1950-х гг. на антиген туляремии исследовались различные объекты внешней среды – погадки хищных птиц, экскременты хищных млекопитающих, солома из скирд, заселенных грызунами и землеройками, подстилка гнезд грызунов [2, 11, 14, 15, 18, 19].

С 30–50-е гг. прошлого столетия были проведены первые исследования экологии туляремийного микробы в водных экосистемах [11, 20–26]. Эти исследования интенсифицировались в последующие годы [11, 27–29]. К животным, которые достаточно регулярно включаются в цепь циркуляции туляремийного микробы в водоемах и способны сохранять его продолжительное время, относятся: озерная лягушка (*Rana ridibundus*), зеленая жаба (*Bufo viridis*), прудовик малый (*Lymnaea truncatula*), прудовик овальный (*L. ovata*), прудовик угнетенный (*L. lagotis*), катушка окаймленная (*Planorbis contortus*), горошинка болотная (*Pisidium casertanum*), водомерка прудовая (*Gerris lacustris*), ракообразные (*Gammarus balcanicus*, *G. pele*), циклопы (*Eucyclops serrulatus*), ручейники (*Limnophilus stigma*, *L. Rhobicus*, *Anabolia sororcula*), копеподы (*Eucyclops serrulatus*), водяной скорпион (*Nepa cinerea*), ракчи хидорусы (*Chydorus sphaericus*), озерные бокоплавы (*Gammaridea lacustris*), малощетинковые черви олигохеты – трубочник обыкновенный (*Tubifex tubifex*), личинки комара тендинпедиды (*Tendipes plumosus*), а также перифитон (обрастание), являющийся поселением водных организмов растительного и животного происхождения.

Большой вклад в изучение резервуаров возбудителя туляремии в водных экосистемах внесли сотрудники Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока [30–35]. Ими проведены бактериологические, серологические, молекулярно-генетические исследования различных структурных компонентов искусственных водных экосистем (аквариумов) – гидробионтов, ила, фитопланктона. Получены результаты натурных исследований в природных очагах туляремии Республики Алтай и Хабаровского края.



В качестве основных объектов исследования на туляремию были выбраны бентосные виды гидробионтов, обитающие или питающиеся в поверхностных слоях иловых отложений. К ним относятся брюхоногие моллюски и некоторые виды ракообразных (гаммарусы, копеподы, хидорусы). Эти животные способны чаще других обитателей водоемов вступать в контакт с находящимся в этой среде туляремийным микробом. Это подтверждают данные и других исследователей [11, 21, 23–26]. В организме этих беспозвоночных происходит накопление вирулентной формы возбудителя, что позволяет его выявлять биологическим методом до одного месяца [9]. На определенную роль этих гидробионтов в сохранении патогена в окружающей среде указывают и результаты обследования естественных водоемов, расположенных на территориях природных очагов. Выявление вирулентной формы микробы в гаммарусах (Алтайский край) на фоне отрицательных анализов воды из этих водоисточников и высокий процент положительных результатов в РНАт и ПЦР от моллюсков являются подтверждением циркуляции туляремийного микробы в водных биоценозах с непосредственным участием этих видов гидробионтов.

Показано также, что туляремийный микроб в ассоциациях с цианобактериями в первые сутки теряет вирулентность и переходит в некультивируемое состояние. Наличие вирулентной формы туляремийного микробы в гидробионтах, иле водоема служит индикатором эпизоотологического неблагополучия на обследуемой территории, поэтому исследование этих компонентов водных биоценозов становится важной составной частью эпизоотологического и эпидемиологического надзора за туляремией. Установлено также, что некультивируемая форма туляремийного микробы является одной из основных форм существования патогена в окружающей среде. Механизмы реверсии в высоковирулентные формы требуют дальнейшего изучения [9].

Ил водных экосистем является средой наиболее благоприятной для персистенции возбудителя туляремии. На сегодня нельзя точно сказать, какой элемент иловых отложений этому способствует. В исследованиях иркутских специалистов [9, 31–35] в иле аквариумов с населяющими его организмами вирулентность возбудителя практически не изменялась на протяжении двух месяцев. Небольшое ее снижение, как и в случае с некоторыми видами гидробионтов, наблюдается после месяца с момента инфицирования экосистемы. Вирулентность восстанавливается

при проведении одного дополнительного пассажа на биопробных животных. В иле дольше, чем в других объектах, обнаруживали антиген и ДНК туляремийного микробы и регистрировали положительную реакцию иммунофлюоресценции.

Существенная роль ила естественных водных экосистем в процессе циркуляции и сохранения возбудителя туляремии в водоемах находит подтверждение в результатах обследовательских работ, проведенных на очаговой по туляремии территории. При исследовании ила естественных водоисточников в Алтайском крае в разные годы выявлено от 2,4 до 10,3% положительных проб в РНАт, причем прослеживалось сезонное (летнее) увеличение количества позитивных проб в 10 раз.

В период увеличения интенсивности эпизоотического процесса (2003 г.) в Хабаровском крае выделена 1,7% культур возбудителя из ила водоисточника, а 9,2 и 12,5% проб были положительными в РНАт и ПЦР соответственно. Даже в период незначительной активности очага (2004 г.) пробы ила, положительные в ПЦР, составляли 10,4%. Обнаружение *F. tularensis* в иле водных экосистем можно объяснить как процессами, связанными с питанием гидробионтов и способствующими переносу возбудителя из верхних слоев воды в придонную область, так и наличием оптимальных условий в этой среде для сохранения и даже размножения патогена. Исходя из данных исследований [9, 31–35] ил водных экосистем и некоторые гидробионты (брюхоногие моллюски, гаммарусы, копеподы) могут служить индикаторами инфицированности водоисточников вирулентной формой возбудителя туляремии, поскольку именно в них патоген может сохраняться наиболее продолжительный период. Результаты исследования материала позволяют оценить эпидемиологическую значимость природных водоемов на обследуемой территории, прогнозировать эпизоотологическую и эпидемиологическую ситуацию.

Нам представляется, что при заражении воды в непроточных водоемах массивной дозой возбудителя туляремии (например, при попадании в воду сравнительно небольших водоемов трупов павших от туляремии грызунов 1-й и 2-й групп по восприимчивости и чувствительности, экскрементов больных грызунов, а также зараженного субстрата) большинство видов гидробионтов заражается туляремийным микробы. В настоящее время, особенно при интенсивных эпизоотиях туляремии в популяциях мелких млекопитающих, исследование воды и фоновых видов гидробионтов становится неотъемлемой



частью эпизоотологического обследования энзоотичных по туляремии территорий, особенно при неблагоприятной эпизоотологической и эпидемиологической обстановке. Чем больше видов животных в паразитарной системе очага туляремии, тем он устойчивее, предпосылок его активизации при определенных факторах среди больше и эпидемиологическое значение (риски заражения людей) выше.

Необходимость изучения экологических особенностей туляремийного микробы [11, 27] обуславливается потребностью в совершенствовании профилактики заболеваний этой инфекцией, что весьма актуально для Российской Федерации, где расположены обширные природные очаги, зачастую граничащие с территорией крупных городов или их рекреационных зон. В таких условиях возникает необходимость совершенствования профилактических мероприятий неспецифического характера [11].

Очень важен мониторинг не только наиболее предпочтаемых носителями и переносчиками биотопов в очагах туляремии, но и прилегающих к ним увлажненных, околоводных и водных экосистем, что позволит делать более надежные прогнозы активности очагов и проводить своевременное планирование соответствующих мер специфической и неспецифической профилактики.

Список литературы

1. Балашов Ю. С. Паразитизм клещей и насекомых на наземных позвоночных. СПб. : Наука, 2009. 356 с.
2. Олсуфьев Н. Г., Дунаева Т. Н. Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии. М. : Медицина, 1970. 272 с.
3. Олсуфьев Н. Г., Дунаева Т. Н. Беспозвоночные животные – переносчики и хранители туляремийной инфекции // Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии. М. : Медицина, 1970. С. 38–59.
4. Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих – переносчиков возбудителей природно-очаговых инфекций. Методические указания 3.1.1027-01. М., 2002. 55 с.
5. Дегтярева Л. В., Тихенко Н. И., Левченко Б. И., Брюханов А. Ф. О распространении и видовом составе иксодовых клещей в Ставропольском крае : сб. науч. тр. Ставропольского НИПЧИ. Новороссийск, 1994. Вып. 1. С. 319–320.
6. Котти Б. К. Переносчики возбудителей природно-очаговых болезней в Ставропольском крае // Вестник Ставропольского гос. ун-та. 1999. Вып. 17. С. 79–84.
7. Котти Б. К. К изучению *Hyalomma marginatum* в Ставропольском крае // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2005. Вып. 4. С. 105–108.
8. Максимов А. А. Основные типы туляремийных очагов, их характеристика и географическое распространение в РСФСР // Доклады АН СССР. Новая серия. 1947. Т. 57, № 5. С. 501–503.
9. Петров В. Г., Кучерук В. В. О поедании обыкновенными полевками (*Microtus arvalis* Pall) клещей (*Dermacentor pictus* Herm) в лабораторных и полевых условиях // Зоол. журнал. 1951. Т. 30, № 5. С. 478–480.
10. Петров В. Г. Экспериментальное изучение клещей *Dermacentor marginatus* Sul., *Rhipicephalus rossicus* Jak. et Jak. как переносчиков туляремии // Вопросы эпидемиологии и профилактики туляремии. М., 1958. С. 117–123.
11. Попова А. Ю., Мефодьев В. В., Степанова Т. Ф., Ежлова Е. Б., Марченко А. Н. Эпидемиология и профилактика туляремии на эндемичных территориях. Тюмень : Изд. центр ТГУ, 2016. 332 с.
12. Резник П. А. Особенности ареалов и пути формирования фауны иксодовых клещей Советского Союза. Fauna Ставрополья. Ставрополь : Изд-во Ставропольская правда, 1970. 198 с.
13. Тицлова Л. А., Резник П. А., Попова Е. В. Иксодовые клещи Ставропольского края и их медицинское значение // Переносчики особо опасных инфекций и борьба с ними : сб. науч. работ противочум. учреждений страны. Ставрополь : Изд-во «Ставропольская правда», 1970. С. 459–473.
14. Туляремия. Организационно-методические материалы / под ред. А. А. Рыжова, Н. Г. Олсуфьева, Б. Н. Пастухова. М. : Медгиз, 1954. 184 с.
15. Туляремия / под ред. Н. Г. Олсуфьева, Г. П. Руднева. М. : Медгиз, 1960. 460 с.
16. Земская А. А. Паразитические гамазовые клещи и их медицинское значение. М. : Медицина, 1973. 166 с.
17. Никулина Н. А. Эпизоологическая и эпидемиологическая значимость гамазовых клещей (сем. *Haemogamasidae*. Oudms., 1926, р. *Haemogamasus* Berl., 1889) мелких млекопитающих на территории Прибайкалья // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2006. № 2 (48). С. 111–114.
18. Ульянова Н. И., Захарова В. В., Сухомлина О. И., Бессонова М. А. Опыт изучения природного очага туляремии в зимний период // Зоол. журн. 1966. Т. XLV, № 1. С. 24–31.
19. Эпидемиологический надзор за туляремией. Методические указания. МУ 3.1.2007-05. М., 2005. 59 с.
20. Айкимбаев М. А. О выделении туляремийных микробов от водяных скорпионов (*Nepa cinerea* L.) // Тр. Среднеазиат. противочум. ин-та. 1959. № 5. С. 283–285.
21. Овасапян О. В. О случаях выделения *B.tularensis* из крабов // Изв. АН Армянской ССР. Биол. и сельскохоз. науки. 1956. Т. 9, № 10. С. 49–52.
22. Олсуфьев Н. Г., Кучерук В. В., Петров В. Г. К изучению природного туляремийного очага предгорно-ручьевого типа // Зоол. журн. 1959. Т. 38, № 3. С. 334–346.
23. Селезнева А. А. Роль гидробионтов в эпидемиологии туляремии // Журн. микробиол. 1950. № 6. С. 73–75.
24. Селезнева А. А. Гидробиологический фактор в распространении туляремии // Тр. Томск. гос. ун-та. Сер. Биология. 1953. Т. 125. С. 255–260.
25. Сильченко В. С. Случай передачи туляремии через укус пиявки // Журн. микробиол. 1950. № 6. С. 70–71.



26. Сомов П. В. Вода как новый эпидемиологический фактор туляремии // Изв. Ростов н/Д НИИ микробиол. и эпидемиол. 1939. № 18. С. 1–32.
27. Громов Б. В., Павленко Г. В. Экология бактерий. Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1989. 248 с.
28. Anda P., Segura J. del Pozo, Díaz García J. M., Escudero R., García Peña F. J., López Velasco M. C., Sellek R. E., Jiménez Chillarón M. R., Sánchez Serrano L. P., Martínez Navarro J. F. Waterborne Outbreak of tularemia Associated with Crayfish Fishing // Emerging Infect. Diseases. 2001. № 7. P. 575–582.
29. Gustafsson K. Growth and survival of four strains of *Francisella tularensis* in a rich medium precon ditioned with *Acanthamoeba palestinensis* // Can. J. Microbiol. 1989. № 35, Vol. 12. P. 1100–1104.
30. Мазена А. В. Гидробиологические факторы в эпидемиологии туляремии : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2004. 24 с.
31. Мирончук Ю. В. Современные аспекты эпидемиологии, эпизоотологии и профилактики туляремии // Журн. инфекционной патологии. 1994. Т. 4, № 1. С. 26–30.
32. Мирончук Ю. В., Мазена А. В., Cannon C. G. Гидробиологические факторы в экологии *Francisella tularensis* (экспериментальные материалы) // Журн. инфекционной патологии. 1998. Т. 5, № 4. С. 58–63.
33. Мирончук Ю. В., Мазена А. В. Жизнеспособность и вирулентность *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* в водных экосистемах (экспериментальное изучение) // Журн. микробиологии. 2002. № 2. С. 9–13.
34. Мирончук Ю. В., Мазена А. В., Гуляко Л. Ф. Роль ила водоемов в сохранении возбудителя туляремии // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2004. Т. 2, № 1. С. 111–113.
35. Мирончук Ю. В., Мазена А. В., Белых О. И. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* в сообществе с цианобактериями // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2004. Т. 2, № 1. С. 139–140.

Образец для цитирования:

Тарасов М. А., Поршаков А. М., Казакова Л. В., Кресова У. А., Романов Р. А., Слудский А. А. Современный кадастр переносчиков и других резервуаров туляремийного микробы в очагах разных типов этой инфекции на территории России // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 343–349. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-343-349>

Modern Cadastre of Vectors and Other Reservoirs of Tularemia Microbe Found in Tularemia Foci of Different Types, Situated in the Territory of Russia

М. А. Тарасов, А. М. Поршаков, Л. В. Казакова, У. А. Кресова, Р. А. Романов, А. А. Слудский

Mikhail A. Tarasov, <https://orcid.org/0000-0003-4615-8279>, Federal Budget Health Institution "Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region" of the Rosпотребнадзор, 69 Bolshaya Gornaya St., 410031 Saratov, Russia, fbuz@gigiena-saratov.ru

Alexandr M. Porshakov, <https://orcid.org/0000-0003-3363-765X>, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46 Universitetskaya St., 410005 Saratov, Russia, pam_82@mail.ru

Larisa V. Kazakova, <https://orcid.org/0000-0002-8927-4707>, Federal Budget Health Institution "Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region" of the Rosпотребнадзор, Saratov, fbuz@gigiena-saratov.ru

Uliana A. Kresova, <https://orcid.org/0000-0002-7965-4482>, Federal Budget Health Institution "Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region" of the Rosпотребнадзор, Saratov, fbuz@gigiena-saratov.ru

Roman A. Romanov, <https://orcid.org/0000-0002-3857-6764>, Federal Budget Health Institution "Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region" of the Rosпотребнадзор, Saratov, fbuz@gigiena-saratov.ru

Alexandr A. Sludsky, <https://orcid.org/0000-0003-4705-6151>, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 46 Universitetskaya St., 410005 Saratov, Russia, rusrapi@microbe.ru

At the present stage of the studies only Ixodidae ticks can be classed by the types of foci, being the main blood-sucking vectors of the tularemia agent. Other blood-sucking arthropods, considering the species abundance and wide-spread occurrence and certain habitat versatility, can be tularemia vectors in several or even in all types of foci. These are the following: primarily, gamasid and argasid ticks, as well as blood-sucking insects. The paper also provides the data on other animals and environmental objects, which can be reservoirs of the infection or indicators of tularemia microbe presence (antigen) in enzootic territory in natural or anthropogenic foci. During the 1930s and 50s, first investigations on the ecology of the tularemia microbe were carried out in aquatic ecosystems. They were intensified in the ensuing years. It was demonstrated that the tularemia microbe circulates in aquatic biocenoses with direct involvement of various species of hydrobionts. **Keywords:** carriers, vectors of infection, infection (contamination) of aquatic environment with tularemia agent.

References

1. Balashov Yu. S. *Parazitizm kleshchey i nasekomykh na nazemnykh pozvonochnykh* [Parasitism of ticks and insects on terrestrial vertebrate species]. St. Petersburg, Nauka Publ., 2009. 356 p. (in Russian).
2. Olsuf'ev N. G., Dunaeva T. N. *Prirodnaya ochagovost', epidemiologiya i profilaktika tulyaremii* [Natural focality, epidemiology, and prophylaxis of tularemia]. Moscow, Meditsina Publ., 1970. 272 p. (in Russian).
3. Olsuf'ev N. G., Dunaeva T. N. *Bespozvonochnye zhivotnye – perenoschiki i khraniteli tulyaremijnoj infekcii* [Invertebrate animals – vectors and carriers of tularemia infection]. In: *Prirodnaya ochagovost', epidemiologiya i profilaktika tulyaremii* [Natural focality, epidemiology, and prophylaxis of tularemia]. Moscow, Meditsina Publ., 1970, pp. 38–59 (in Russian).



4. *Sbor, uchet i podgotovka k laboratornomu issledovaniyu krovososuschikh chlenistonogikh – perenoschikov vozбудитеley prirodno-ochagovykh infektsiy* [Catching, registration and preparation to laboratory investigation of blood-sucking arthropods – vectors of the agents of natural-focal infections]. Methodological regulations 3.1.1027-01. Moscow, 2002. 55 p. (in Russian).
5. Degtyareva L. V., Tikhenco N. I., Levchenko B. I., Bryukhanov A. F. O rasprostranenii i vidovom sostavе iksodovykh kleschey v Stavropol'skom kraе [On the distribution and species composition of Ixodidae ticks in the Stavropol Territory]. *Sb. nauch. tr. Stavropol'skogo NIPChI* [Collection of scientific works of the Stavropol RAPI]. Novorossiysk, 1994, iss. 1, pp. 319–320 (in Russian).
6. Kotti B. K. Perenoschiki vozбудитеley prirodno-ochagovykh bolezney v Stavropol'skom kraе [Vectors of the agents of natural-focal diseases in the Stavropol Territory]. *Vestnik Stavropol'skogo gos. universiteta* [Bulletin of Stavropol State University], 1999, iss. 17, pp. 79–84 (in Russian).
7. Kotti B. K. On the studies of *Hyalomma marginatum* in the Stavropol Territory. *Journal of Microbiology*, 2005, iss. 4, pp. 105–108 (in Russian).
8. Maksimov A. A. Main types of tularemia foci, their characteristics and geographical distribution in the Russian Soviet Federative Socialist Republic. *Reports of the USSR Academy of Sciences. New Series*, 1947, vol. 57, no. 5, pp. 501–503 (in Russian).
9. Petrov V. G., Kucheruk V. V. Concerning feeding of the common voles (*Microtus arvalis* Pall) on ticks (*Dermacentor pictus* Herm) in laboratory and field environment. *Zoological Journal*, 1951, vol. 30, no. 5, pp. 478–480 (in Russian).
10. Petrov V. G. Eksperimental'noe izuchenie kleshchej *Dermacentor marginatus* Sul., *Rhipicephalus rossicus* Jak. et Jak. kak perenoschikov tulyaremii [Experimental studies of *Dermacentor marginatus* Sul., *Rhipicephalus rossicus* Jak. et Jak. as tularemia vectors]. In: *Voprosy epidemiol. i profilakt. tulyaremii* [Issues of epidemiology and prophylaxis of tularemia]. Moscow, 1958, pp. 117–123 (in Russian).
11. Popova A. Yu., Mefod'ev V. V., Stepanova T. F., Ezhlova E. B., Marchenko A. N. *Epidemiologiya i profilaktika tulyaremii na endemichnyh territoriyah* [Epidemiology and prophylaxis of tularemia in endemic territories]. Tyumen, Izd. tsentr TSU, 2016. 332 p. (in Russian).
12. Reznik P. A. *Osobennosti arealov i puti formirovaniya fauny iksodovyh kleshchej Sovetskogo Soyuza. Fauna Stavropol'ya* [Peculiarities of areals and ways of Ixodidae tick fauna formation of the Soviet Union. Fauna of the Stavropol Region]. Stavropol, Izd-vo Stavropol'skaya pravda, 1970. 198 p. (in Russian).
13. Tiflova L. A., Reznik P. A., Popova E. V. Iksodovye kleshchi Stavropol'skogo kraя i ikh meditsinskoe znachenie. Perenoschiki osobo opasnykh infektsiy i bor'ba s nimi [Ixodidae ticks of the Stavropol Territory and their medical significance]. In: *Perenoschiki osobo opasnykh infektsiy i bor'ba s nimi : sb. nauch. rabot protivochum. uchrezhdeniy strany* [Vectors of particularly dangerous infections and their control: Collection of works of national anti-plague institutions]. Stavropol, Izd-vo Stavropol'skaya pravda, 1970, pp. 459–473 (in Russian).
14. *Tulyaremija. Organizacionno-metodicheskie materialy*. [Tularemia. Organizational-methodological materials]. Eds. A. A. Ryzhova, N. G. Olsuf'eva, B. N. Pastukhova. Moscow, Medgiz Publ., 1954. 184 p. (in Russian).
15. *Tulyaremija* [Tularemia] Ed. by N. G. Olsuf'eva, G. P. Rudneva. Moscow, Medgiz Publ., 1960. 460 p. (in Russian).
16. Zemskaya A. A. *Paraziticheskie gamazovye kleschi i ikh medicinskoе znachenie* [Parasitic gamasid ticks and their medical significance]. Moscow, Meditsina Publ., 1973. 166 p. (in Russian).
17. Nikulina N. A. Epizootiological and epidemiological significance of gamasid ticks (sem. Haemogamasidae, Oudsms., 1926, r. Haemogamasus Berl., 1889) of small mammals in the territory of Baikal region. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of RAMS Siberian Branch*, 2006, no. 2 (48), pp. 111–114 (in Russian).
18. Ul'yanova N. I., Zaharova V. V., Suhomlina O. I., Bessonova M. A. Lessons learned from studies of natural tularemia focus during winter months. *Zoological Journal*, 1966, vol. XLV, no. 1, pp. 24–31 (in Russian).
19. *Epidemiologicheskiy nadzor za tulyaremey. Metodicheskie ukazaniya. MU 3.1.2007-05* [Epidemiological surveillance over tularemia. Methodological Regulations. MR 3.1.2007-05]. Moscow, 2005. 59 p. (in Russian).
20. Aykimbayev M. A. Concerning isolation of tularemia microbes from water scorpions (*Nepa cinerea* L.). *Works of Central Asian Anti-Plague Institute*, 1959, no. 5, pp. 283–285 (in Russian).
21. Ovasapyan O. V. Regarding the cases of *B.tularensis* isolation from crabs. *Bulletin of the Academy of Sciences of Armenian Soviet Socialist Republic, biological and agricultural sciences*, 1956, vol. 9, no. 10, pp. 49–52 (in Russian).
22. Olsuf'ev N. G., Kucheruk V. V., Petrov V. G. Regarding the studies of natural tularemia focus of piedmont type]. *Zoological Journal*, 1959, vol. 38, no. 3, pp. 334–346 (in Russian).
23. Selezneva A. A. The role of hydrobionts in epidemiology of tularemia. *Journal of Microbiology*, 1950, no. 6, pp. 73–75 (in Russian).
24. Selezneva A. A. Hydro-biological factor in the dissemination of tularemia. *Works of Tomsk State University, biology series*, 1953, vol. 125, pp. 255–260 (in Russian).
25. Sil'chenko V. S. A case of transmission of tularemia through leech bite. *Journal of Microbiology*, 1950, no. 6, pp. 70–71 (in Russian).
26. Somov P. V. Water as a new epidemiological factor of tularemia. *Bulletin of the Rostov-on Don Research Institute of Microbiology and Epidemiology*, 1939, no. 18, pp. 1–32 (in Russian).
27. Gromov B. V., Pavlenko G. V. *Ekologiya bakteriy* [Ecology of bacteria]. Leningrad, Izd-vo Leningr. un-ta, 1989. 248 p. (in Russian).
28. Anda P., Segura J. del Pozo, Díaz García J. M., Escudero R., García Peña F. J., López Velasco M. C., Sellek R. E., Jiménez Chillardón M. R., Sánchez Serrano L. P., Martínez



- Navarro J. F. Waterborne Outbreak of tularemia Associated with Crayfish Fishing. *Emerging Infect. Diseases*, 2001, no. 7, pp. 575–582.
29. Gustafsson K. Growth and survival of four strains of *Francisella tularensis* in a rich medium preconditioned with *Acanthamoeba palestinensis*. *Can. J. Microbiol.*, 1989, vol. 12, no. 35, pp. 1100–1104.
30. Mazepa A. V. *Gidrobiologicheskie faktory v epidemiologii tularemii* [Hydro-biological factors in epidemiology of tularemia]. Thesis Diss. Cand. Sci. (Med.). Irkutsk, 2004. 24 p. (in Russian).
31. Mironchuk Yu. V. Modern aspects of epidemiology, epizootiology, and prophylaxis of tularemia. *Journal of Infectious Pathology*, 1994, vol. 4, no. 1, pp. 26–30 (in Russian).
32. Mironchuk Yu. V., Mazepa A. V., Sappo S. G. Hydrobiological factors in ecology of *Francisella tularensis* (experimental material). *Journal of Infectious Pathology*, 1998, vol. 5, no. 4, pp. 58–63 (in Russian).
33. Mironchuk Yu. V., Mazepa A. V. Viability and virulence of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in aqueous ecosystems (experimental studies). *Journal of Microbiology*, 2002, no. 2, pp. 9–13 (in Russian).
34. Mironchuk Yu. V., Mazepa A. V., Gulyako L. F. The role of silt reservoirs in preservation of the causative agent of tularemia. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of RAMS Siberian Branch*, 2004, vol. 2, no. 1, pp. 111–113 (in Russian).
35. Mironchuk Yu. V., Mazepa A. V., Belyh O. I. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in the community with cyanobacteria. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of RAMS Siberian Branch*, 2004, vol. 2, no. 1, pp. 139–140 (in Russian).

Cite this article as:

Tarasov M. A., Porshakov A. M., Kazakova L. V., Kresova U. A., Romanov R. A., Sludsky A. A. Modern Cadastre of Vectors and Other Reservoirs of Tularemia Microbe Found in Tularemia Foci of Different Types, Situated in the Territory of Russia. *Izv. Saratov Univ. (N. S.)*, Ser. Chemistry. Biology. Ecology, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 343–349 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-343-349>



УДК 582.977:574.3

Онтогенетическая структура и состояние ценопопуляций реликтового вида *Hedysarum gmelinii* Ledeb. в Предуралье Республики Башкортостан

Л. М. Абрамова, А. Н. Мустафина, О. А. Каримова



Абрамова Лариса Михайловна, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РБ и РФ, главный научный сотрудник лаборатории дикорастущей флоры и интродукции травянистых растений, Южно-Уральский ботанический сад-институт – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, abramova.lm@mail.ru

Мустафина Альфия Науфалевна, старший научный сотрудник лаборатории дикорастущей флоры и интродукции травянистых растений, Южно-Уральский ботанический сад-институт – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, alfverta@mail.ru

Каримова Ольга Александровна, ученый секретарь, Южно-Уральский ботанический сад-институт – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, karimova07@yandex.ru

Представлены результаты изучения онтогенетической структуры семи ценопопуляций реликтового вида *Hedysarum gmelinii* Ledeb. на территории Республики Башкортостан. Исследованные ценопопуляции произрастают на склонах разной экспозиции, с уклоном до 35°, основным типом растительности является пустынно-овесцово-коржинско-ковыльная петрофитная степь, антропогенная нагрузка средняя или слабая. Общая плотность в популяциях *H. gmelinii* варьирует от 1,7 до 12,2 экз./м², эффективная плотность – 1,5–4,6 экз./м². Большинство изученных ценопопуляций относятся к нормальным неполночленным, пик приходится на среднегенеративные особи (46,1%). Онтогенетическая структура отдельных природных ЦП имеет два основных типа спектра – левосторонний и центрированный. По классификации «дельта – омега» четыре ценопопуляции относятся к молодым, три являются зрелыми. Состояние ценопопуляций реликтового вида *Hedysarum gmelinii* в Республике Башкортостан стабильное, дополнительных мер по охране в регионе не требуется, поэтому исключение его из числа «краснокнижных» видов правомочно. С учетом того что вид находится в изолированном фрагменте в стороне от основного ареала, занимающем всего несколько административных районов центральной части Предуралья, необходим дальнейший мониторинг состояния его ценопопуляций.

Ключевые слова: *Hedysarum gmelinii* Ledeb., Республика Башкортостан, реликтовый вид, ценопопуляция, онтогенетическая структура.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-350-356>

Введение

Возрастная структура представляет собой один из важнейших признаков ценопопуляции, который обеспечивает способность популяционной системы к самоподдержанию и определяет ее устойчивость [1]. Мы проводим изучение струк-

туры и мониторинг ценопопуляций редких видов Южного Урала, среди которых представлены эндемичные и реликтовые виды [2–6]. Настоящая работа посвящена реликтовому виду *Hedysarum gmelinii* Ledeb. из семейства Fabaceae.

Hedysarum gmelinii – плейстоценовый реликт южно-сибирского происхождения, основной ареал которого простирается от гор Средней Азии до Якутии и Монголии [7]. На Южном Урале расположен изолированный дизъюнктивный фрагмент ареала. Вид охраняется в Республике Татарстан и Ульяновской области [8], в Республике Башкортостан ранее входил в объекты охраны [9], но в настоящее время исключен из последнего издания Красной книги [10] как устойчивый вид, не требующий специальных мер по сохранению. Входит в список объектов растительного мира, нуждающихся в особом внимании и контроле в природной среде и мониторинге [10]. Поэтому исследование структуры ценопопуляций вида в оторванном от основного ареала дизъюнктивном фрагменте актуально, как и оценка состояния его ценопопуляций, ставших целью наших исследований.

Материалы и методы

Исследования проводились в 2016–2017 гг. в лесостепной зоне Башкирского Предуралья на горах-останцах эрозионного происхождения – Башкирских шиханах. Цепочка этих невысоких (до 400 м) одиночных куполообразных гор протянулась через Южную лесостепь Предуралья от широты г. Уфы до г. Мелеуза. На них нередко можно встретить виды рода *Hedysarum*, в том числе и исследуемый нами вид – копеечник Гмелина.

Для оценки онтогенетической структуры в популяциях *Hedysarum gmelinii* на трансекте за-кладывалось по 30 учетных площадей в 1 м². Порядок заложения (линейный или шахматный) и шаг трансекты (5 или 10 м) зависели от площади, занимаемой конкретной ценопопуляцией. Определялись ведущие популяционные характеристики, такие как общая и эффективная плотность особей (произведение индекса эффективности на общую плотность), онтогенетический состав.



Онтогенез *H. gmelinii* ранее описан В. Н. Ильиной [11]. При определении возрастной структуры ценопопуляций (ЦП), согласно стандартным критериям [12–14], учитывались следующие возрастные состояния: ювенильные (*j*), имматурные (*im*), виргинильные (*v*), молодые генеративные (*g*₁), средние генеративные (*g*₂), старые генеративные (*g*₃), субсенильные (*ss*). На основании полученных данных построены онтогенетические (возрастные) спектры ЦП.

Для характеристики онтогенетической структуры ЦП применяли следующие демографические показатели: индекс восстановления (отношение плотности прегенеративных растений к плотности генеративных растений) [15] и индекс старения (отношение плотности постгенеративных растений к плотности всех растений, кроме проростков) [16]. Для оценки состояния ЦП был применен критерий «дельта – омега» Л. А. Животовского [17], основанный на совместном использовании индексов возрастности (Δ) [13] и эффективности (ω) [17], с помощью которых определялась принадлежность их к следующим типам: молодые, зреющие, зрелые, переходные, стареющие, старые.

Статический анализ провели в MS Excel 2010 с использованием стандартных показателей [18].

Результаты и их обсуждение

Ниже приведена краткая характеристика местообитаний ЦП *H. gmelinii* (названия давались по ближайшему географическому объекту):

ЦП 1 – гора Ярыштау. Средняя часть склона северо-западной экспозиции с уклоном 35%. Почвообразующие породы – песчаники. Пустынноовсесцово-коржинскоковыльная петрофитная степь. Антропогенная нагрузка слабая (рекреация).

ЦП 2 – д. Буранголово. Нижняя часть склона западной экспозиции с уклоном 20%. Почвообразующие породы – песчаники. Тырсово-степномятниковая петрофитная степь. Антропогенная нагрузка слабая (рекреация).

ЦП 3 – гора Таштубэ. Нижняя часть склона северо-западной экспозиции с уклоном 20%. Почвообразующие породы – песчаники. Пустынноовсесцово-коржинскоковыльная петрофитная степь. Антропогенная нагрузка слабая (выпас).

ЦП 4 – д. Алышево. Склон западной экспозиции с уклоном 5–10%. Почвообразующие породы – песчаники. Пустынноовсесцово-коржинскоковыльная петрофитная степь. Антропогенная нагрузка средняя (выпас).

ЦП 5 – гора Пикарская. Верхняя часть склона западной экспозиции с уклоном 5–10%.

Почвообразующие породы – песчаники. Пустынноовсесцово-тырсовая петрофитная степь. Антропогенная нагрузка средняя (выпас).

ЦП 6 – гора Сатыртау. Нижняя часть склона восточной экспозиции с уклоном 20–25%. Почвообразующие породы – песчаники. Пустынноовсесцово-коржинскоковыльная петрофитная степь. Антропогенная нагрузка средняя (выпас).

ЦП 7 – д. Чятай-Бурзян. Вершина склона юго-восточной экспозиции с уклоном 10–15%. Пустынноовсесцово-тырсовая петрофитная степь. Антропогенная нагрузка средняя (выпас).

Можно видеть, что ценопопуляции вида расположены на склонах разной экспозиции с уклоном от 5 до 35°, большинство местообитаний вида нарушено рекреацией или выпасом скота в слабой и средней степени. Основной тип растительности – пустынноовсесцово-коржинскоковыльная петрофитная степь и ее производный на сбитых пастбищах тырсово-степномятниковый вариант. В основном сообщества с копечником Гмелина располагаются в средней или нижней части склонов, реже на вершинах холмов, на задернованных почвах с плотным травостоем.

Растения разных онтогенетических состояний потребляют ресурсы среды разными темпами. Нагрузка ценопопуляций на энергетические ресурсы среды зависит не только от ее плотности, но и от соотношения растений разных возрастных состояний в данной ценопопуляции. Поэтому вклад растений разных возрастных состояний в популяционную плотность взвешен соответственно их энергетической эффективности [17]. Общая эффективная плотность и возрастной состав представлены в табл. 1.

Общая плотность в ЦП *H. gmelinii* варьирует от 1,7 до 12,2 экз./м², эффективная плотность – 1,5–4,6 экз./м². В большинстве ценопопуляций преобладает генеративная фракция. Максимальные значения показателей плотности имеют ЦП 2 и 6 (12,2 экз./м²), где преобладает доля прегенеративных особей (69,7 и 65,2% соответственно). Значительно больше генеративная фракция в ЦП 1, 3, 4 (73,9, 97,6 и 81,8% соответственно), где значения общей и эффективной плотности наиболее близки (2,1, 2,8; 1,6, 1,7 и 1,5, 1,8 экз./м²). Прегенеративная фракция максимальна в ЦП 2, 6 и 7, где различия по показателям плотности наиболее выражены – это самые плотные ценопопуляции. Постгенеративных особей больше всего в ЦП 3 (2,4%), где полностью отсутствует прегенеративная фракция.

Распределение особей по онтогенетическим группам и демографические показатели в ценопопуляциях *H. gmelinii* представлены в табл. 2.



Таблица 1 / Table 1

Показатели плотности и онтогенетический состав ценопопуляций *H. gmelinii*
Indicators of density and ontogenetic structure of coenopopulations *H. gmelinii*

№ ЦП / СР	Эффективная плотность, экз./м ² / Effective density, ind./m ²	Плотность, экз./м ² / Dencity, ind./m ²	<i>p</i>	<i>j</i>	<i>im</i>	<i>v</i>	<i>g</i> ₁	<i>g</i> ₂	<i>g</i> ₃	<i>ss</i>
1	2,1	2,8	0,0	14,5	5,8	5,8	4,3	60,9	8,7	0,0
2	4,6	12,2	14,5	30,6	13,2	11,5	4,3	20,4	4,3	1,3
3	1,6	1,7	0,0	0,0	0,0	0,0	2,4	88,1	7,1	2,4
4	1,5	1,8	0,0	4,5	0,0	13,6	13,6	68,2	0,0	0,0
5	2,8	6,1	30,1	13,7	9,2	4,6	1,3	32,0	7,8	1,3
6	4,5	12,2	48,9	6,2	4,6	5,6	7,2	23,3	4,3	0,0
7	4,2	10,0	11,6	27,3	20,1	7,6	2,8	29,7	0,8	0,0

Таблица 2 / Table 2

Распределение особей по онтогенетическим состояниям и демографические показатели состояния ЦП *H. gmelinii*
Distribution of individuals on ontogenetic states and demographic indicators of coenopopulations *H. gmelinii*

№ ЦП / СР	Онтогенетическое состояние, % / Ontogenetic state, %			Демографические показатели / Demographic indicators						
	<i>p</i> + <i>j</i> + <i>im</i> + <i>v</i>	<i>g</i> ₁ + <i>g</i> ₂ + <i>g</i> ₃	<i>ss</i>	Δ	ω	Тип ЦП / Population type	<i>I</i> _B / <i>I</i> _{Rec}	<i>I</i> _{CT} / <i>I</i> _{Ag}		
2	69,7		28,9	1,3	0,18	0,37	Молодая / Young		1,91	0,02
6	65,2		34,8	0,0	0,18	0,37	Молодая / Young		0,47	0
7	66,7		33,3	0,0	0,19	0,42	Молодая / Young		1,65	0
5	57,5		41,2	1,3	0,25	0,45	Молодая / Young		0,67	0,02
1	26,1		73,9	0,0	0,39	0,76	Зрелая / Mature		0,35	0
4	18,2		81,8	0,0	0,39	0,85	Зрелая / Mature		0,22	0
3	0,0		97,6	2,4	0,52	0,97	Зрелая / Mature		0	0,02

По классификации А. А. Уранова и О. В. Смирновой [19] изученные ЦП *H. gmelinii* относятся к нормальным, большинство из них – неполночленные. Отсутствие в спектрах большинства ЦП субсенильных и сенильных особей связано с сокращением онтогенеза за счет быстрого отмирания растений в старом генеративном состоянии: особи проходят полный онтогенез только при хороших условиях произрастания, достаточно высокой влажности почвы и при отсутствии или слабых антропогенных нарушениях.

Усредненный онтогенетический спектр изученных ценопопуляций *H. gmelinii* можно видеть на рисунке. Он центрированный с абсолютным максимумом на средневозрастных генеративных особях (46,1%). Растения данного вида произрастают в благоприятных по соотношению влаги и температуры условиях, но в основном в средних и нижних частях склонов с плотным травостоем, и по нашим наблюдениям, для них именно задернение повышает элиминацию проростков и молодых особей в сухих склоновых местообитаниях. Каждая конкретная ЦП имеет свой онтогенетический спектр. Это зависит от

условий местообитания, плотности травостоя, степени антропогенной нагрузки и колебаний погодных условий, которые влияют на особенности прорастания семян и темпы развития особей в том или ином онтогенетическом состоянии.

Онтогенетическая структура отдельных природных ЦП *H. gmelinii* имеет два основных типа спектра – левосторонний и центрированный.

Полный перечень онтогенетических состояний ЦП представлен в ЦП 2 и 5. В остальных случаях наблюдаются различные отклонения от полночленного онтогенетического спектра. Левосторонний одновершинный спектр формируется в ЦП 6, максимум приходится на проростки (48,8%). Левосторонний двухвершинный спектр выявлен в ЦП 2, один пик приходится на ювенильные особи (30,6%), второй – на средневозрастные генеративные особи (20,4%). Эти популяции находятся в умеренно нарушенных выпасом местах возле населенного пункта, где разреженность травостоя способствует прорастанию семян и развитию молодых особей.



Усредненный онтогенетический спектр ЦП *H. gmelinii*. По оси *x*: – онтогенетическое состояние: *p* – проростки, *j* – ювенильное, *im* – имматурное, *v* – виргинильное, *g*₁ – молодое генеративное, *g*₂ – средневозрастное генеративное, *g*₃ – старое генеративное, *ss* – субсенильное; по оси *y* – доля особей данного онтогенетического состояния, %

Average ontogenetic spectrum of coenopopulations of *H. gmelinii*. On abscissa axis: *x* – Ontogenetic state: *p* – germ, *j* – juvenile, *im* – immature, *v* – virgin, *g*₁ – young-generative, *g*₂ – middle-generative, *g*₃ – old-generative, *ss* – subsenile; on ordinate *y* – part of individuals of this ontogenetic state, %

В остальных ценопопуляциях формируется центрированный онтогенетический спектр с максимумом на средневозрастных генеративных особях (29,7–88,1%). В ЦП 5 и 7 центрированный онтогенетический спектр имеет два пика. Первый пик для ЦП 5 приходится на проростки (30,1%) и для ЦП 7 – на ювенильные особи (27,3%), второй пик – на среднегенеративные особи (32,0 и 29,7% соответственно). Данные ценопопуляции мало нарушены выпасом скота, располагаются в верхней части склона горы с небольшим процентом проективного покрытия, что способствует быстрому переходу молодых особей в генеративное состояние. ЦП 3 характеризуется полным отсутствием прегенеративной фракции. Возможно, это связано с тем, что при отсутствии постоянных нарушений в степных сообществах наблюдается старение популяций вследствие слабого возобновления из-за задернения почвы.

Оценка исследованных ценопопуляций *Hedysarum gmelinii* по классификации «дельта – омега» показала, что четыре ЦП (2, 5–7) относятся к молодым ($\Delta = 0,18–0,25$, $\omega = 0,37–0,45$), где больше всего представлены прегенеративные особи. Три ЦП (1, 3, 4) – зрелые ($\Delta = 0,39–0,52$, $\omega = 0,76–0,97$), в их составе доля средневозрастных генеративных особей велика, а доля прегенеративных мала. Индекс восстановления в двух ЦП (2 и 7) выше единицы (1,91 и 1,65 соответственно), в остальных ниже (0,22–0,67), в ЦП 3 этот индекс равен нулю, что говорит о полном отсутствии прегенеративной фракции.

Индекс старения очень низкий (0,0–0,02), что говорит как о плохом пополнении молодыми особями, так и об интенсивном отмирании особей в старом генеративном состоянии.

На основании полученных данных можно предположить, что оптимальными условиями обитания *H. gmelinii* являются те, в которых онтогенетические спектры ЦП близки к базовому спектру. В данном случае это ЦП 1 и 5, расположенные на средней или в верхней частях склонов с небольшой антропогенной нагрузкой.

Заключение

Таким образом, по результатам проведенных исследований определены возрастные спектры ценопопуляций плейстоценового реликта *Hedysarum gmelinii* в Башкирском Предуралье. Общая плотность в ценопопуляциях *H. gmelinii* варьирует от 1,7 до 12,2 экз./м², эффективная плотность – 1,5–4,6 экз./м². Онтогенетический спектр в большинстве ЦП неполночленный, что связано с быстрым отмиранием растений после завершения генеративного состояния, а также с тем, что *H. gmelinii* произрастает в сообществах с довольно плотным травостоем, препятствующим прорастанию семян и развитию молодых растений. По классификации «дельта – омега» ЦП *H. gmelinii* представлены преимущественно молодыми, реже зрелыми ЦП. Индекс восстановления и старения в большинстве ценопопуляций ниже единицы или равен нулю, что свидетельствует о низком уровне прегенеративной

фракции. *H. gmelinii* как вид, представленный достаточно хорошо сохранившимися и многочисленными ценопопуляциями, не требует дополнительных мер по охране, поэтому исключение его из числа «краснокнижных» видов правомочно. Тем не менее, принимая во внимание то, что число ценопопуляций вида в Башкортостане невелико и он находится в изолированном фрагменте в стороне от основного ареала, занимающем всего несколько административных районов центральной части Предуралья, необходим дальнейший мониторинг состояния его популяций.

Благодарности

Работа выполнена по Программе фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем и биологические ресурсы России» и в рамках государственного задания ЮУБСИ УФИЦ РАН по теме АААА-А18-118011990151-7.

Список литературы

1. Заугольнова Л. Б., Смирнова О. В. Возрастная структура ценопопуляций многолетних растений и ее динамика // Журн. общ. биологии. 1978. Т. 39, № 6. С. 849–857.
2. Абрамова Л. М., Баширова Р. М., Муртазина Ф. К., Усманов И. Ю. Характеристика ценопопуляций *Glycyrrhiza korshinskyi* Grig. на юго-востоке Республики Башкортостан // Растительные ресурсы. 2001. Т. 37, вып.2. С.24–29.
3. Абрамова Л. М., Ильина В. Н., Каримова О. А., Мустафина А. Н. Особенности организации популяций редкого вида *Cephalaria uralensis* (Mitt.) Schrad. ex Roem. et Schult. (Dipsacaceae, Magnoliopsida) в Заволжье и Предуралье // Поволжский экологический журнал. 2018. № 1. С. 3–15. DOI: 10.18500/1684-7318-2018-1-3-15
4. Каримова О. А., Мустафина А. Н., Голованов Я. М., Абрамова Л. М. Возрастной состав ценопопуляций *Patrinia sibirica* (Valerianaceae) на Южном Урале // Растительные ресурсы. 2016. Т. 52, вып. 1. С. 49–65.
5. Каримова О. А., Мустафина А. Н., Абрамова Л. М. Современное состояние природных популяций редкого вида *Medicago cancellata* Bieb. в Республике Башкортостан // Вестн. Том. гос. ун-та. Биология. 2016. № 3 (35). С. 43–59. DOI: 10.17223/19988591/35/3
6. Каримова О. А., Абрамова Л. М., Мустафина А. Н., Голованов Я. М. Состояние ценопопуляций *Anthemis trotzkiana* (Asteraceae) в Оренбургской области // Ботанический журнал. 2018. Т. 103, № 6. С. 740–754. DOI: 10.1134/S0006813618060042
7. Князев М. С. Бобовые (Fabaceae Lindl.) Урала : видообразование, географическое распространение, историко-экологические свидетельства : дис. ... д-ра биол. наук / Бот. институт им. В. Л. Комарова РАН. СПб., 2014. 607 с.
8. Красный список особо охраняемых редких и находящихся под угрозой исчезновения животных и растений. Ч. 3.1 (Семенные растения). М. : Наука, 2004 (2005). 352 с.
9. Кучеров Е. В., Мулдашев А. А., Галеева А. Х. Красная книга Республики Башкортостан. Т. 1. Редкие и исчезающие виды высших сосудистых растений. Уфа : Китап, 2001. 280 с.
10. Красная книга Республики Башкортостан. Т. 1. Растения и грибы. Уфа : МедиаПринт, 2011. 384 с.
11. Онтогенетический атлас растений : научное издание. Т. VI / отв. ред. проф. Л. А. Жукова. Йошкар-Ола : МарГУ, 2011. 336 с.
12. Работников Т. А. Жизненный цикл многолетних травянистых растений в луговых ценозах // Тр. БИН АН СССР. Сер. 3. Геоботаника. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1950. Вып. 6. С. 7–204.
13. Уранов А. А. Возрастной спектр фитоценопопуляции как функция времени и энергетических волновых процессов // Биологические науки. 1975. № 2. С. 7–34.
14. Ценопопуляции растений (основные понятия и структура). М. : Наука, 1976. 217 с.
15. Жукова Л. А. Популяционная жизнь луговых растений. Йошкар-Ола : РИИК «Ланар», 1995. 224 с.
16. Глотов Н. В. Об оценке параметров возрастной структуры популяций растений // Жизнь популяций в гетерогенной среде. Ч. 1. Йошкар-Ола : МарГУ, 1998. С. 146–149.
17. Животовский Л. А. Онтогенетическое состояние, эффективная плотность и классификация популяций // Экология. 2001. Т. 32, № 1. С. 3–7. DOI: 10.1023/A:1009536128912
18. Зайцев Г. Н. Математика в экспериментальной биологии. М. : Наука, 1990. 296 с.
19. Уранов А. А., Смирнова О. В. Классификация и основные черты развития популяций многолетних растений // Бюл. МОИП. 1969. Отд. биол. Т. 79, № 1. С. 119–135.

Образец для цитирования:

Абрамова Л. М., Мустафина А. Н., Каримова О. А. Онтогенетическая структура и состояние ценопопуляций редкого вида *Hedysarum gmelinii* Ledeb. в Предуралье Республики Башкортостан // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 350–356. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-350-356>

**Ontogenetic Structure and Population Status
of the Relict Species of *Hedysarum gmelinii* Ledeb.
in the Cis-Urals Republic of Bashkortostan**

L. M. Abramova, A. N. Mustafina, O. A. Karimova

Larisa M. Abramova, <https://orcid.org/0000-0002-3196-2080>, South Ural Botanical Garden-Institute – a separate structural unit of the Ufa Federal research center of the Russian Academy of Sciences, 195/3 Mendeleev St., Ufa 450080, Russia, abramova.lm@mail.ru

Alfiya N. Mustafina, <https://orcid.org/0000-0001-9163-177X>, South Ural Botanical Garden-Institute – a separate structural unit of the Ufa Federal research center of the Russian Academy of Sciences, 195/3 Mendeleev St., Ufa 450080, Russia, alfverta@mail.ru

Olga A. Karimova, <https://orcid.org/0000-0001-9615-4263>, South Ural Botanical Garden-Institute – a separate structural unit of the Ufa Federal research center of the Russian Academy of Sciences, 195/3 Mendeleev St., Ufa 450080, Russia, karimova07@yandex.ru

The results of studying the ontogenetic structure of coenopopulations of the relict species *Hedysarum gmelinii* Ledeb. in the Bashkortostan of Republic are presented. The investigated cenopopulations growing on slopes of different exposure, with a slope of 35°, is the main type of vegetation – *Helictotrichon desertorum*–*Stipa korshinskyi* petrophyte steppe, anthropogenic load is low or medium. The overall density of the coenopopulations of *H. gmelinii* varies from 1,7 to 12,2 ind./m², an effective density from 1,5 to 4,6 ind./m². The majority of the studied coenopopulations belong to the normal incomplete, peaking at middle-generation individuals (46,1%). The ontogenetic structure of individual natural coenopopulations has two main types of spectrum: left-sided and centered. According to the classification of “delta–omega” four coenopopulations are young, three are mature. The status of coenopopulations of the relict species *Hedysarum gmelinii* in the Bashkortostan of Republic is stable, additional protection measures are not required in the region, so its exclusion from the number of “Red Book” species is competent. Given that the species is located in an isolated fragment away from the main area, which occupies only a few administrative areas of the Central part of the Urals, it is necessary to further monitor the status of its coenopopulations.

Keywords: *Hedysarum gmelinii* Ledeb., Republic of Bashkortostan, relict species, coenopopulation, ontogenetic structure.

Acknowledgements: The work was performed under the Basic Research Program of the Presidium of the Russian Academy of Sciences “Biodiversity of Natural Systems and Biological Resources of Russia” and within the framework of the state assignment of AAAA-A18-118011990151-7 by SUBGI UFRC RAS.

References

- Zaugol'nova L. B., Smirnova O. V. Age structure of perennial plants and its dynamics. *Biology Bulletin Reviews*, 1978, vol. 39, no. 6, pp. 849–857 (in Russian).
- Abramova L. M., Bashirova R. M., Murtazina F. K., Usmanov I. Yu. Characteristics of coenopopulations of *Glycyrrhiza korshinskyi* Grig. in the South-East of the Bashkortostan of Republic. *Rastitel'nye resursy*, 2001, vol. 37, iss. 2, pp. 24–29 (in Russian).
- Abramova L. M., Il'ina V. N., Karimova O. A., Mustafina A. N. Features of the organization of populations of a rare species *Cephalaria uralensis* (Murr.) Schrad. ex Roem. et Schult. (Dipsacaceae, Magnoliopsida) in the Volga and the Pre-Urals region. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2018, no. 1, pp. 3–15 (in Russian). DOI: 10.18500/1684-7318-2018-1-3-15
- Karimova O. A., Mustafina A. N., Golovanov Ya. M., Abramova L. M. Age composition of coenopopulations *Patrinia sibirica* (Valerianaceae) in the South Urals. *Rastitel'nye resursy*, 2016, vol. 52, iss. 1, pp. 49–65. (in Russian).
- Karimova O. A., Mustafina A. N., Abramova L. M. Current state of natural populations of a rare species *Medicago cancellata* Bieb. in the Bashkortostan of Republic. *Tomsk State University Journal. Biology*, 2016, no. 3 (35), pp. 43–59 (in Russian). DOI: 10.17223/19988591/35/3
- Karimova O. A., Abramova L. M., Mustafina A. N., Golovanov Ya. M. Condition of coenopopulations of *Anthemis trotzkiana* (Asteraceae) in the Orenburg region. *Botanicheskii zhurnal*, 2018, vol. 103, no. 6, pp. 740–754 (in Russian). DOI: 10.1134/S0006813618060042
- Knyazev M. S. *Bobovye* (Fabaceae Lindl.) *Urala: videoobrazovanie, geograficheskoe rasprostranenie, istoriko-ekologicheskie svity* [Fabaceae Lindl. of the Urals: a new species, geographical distribution, historical and environmental Suite]. Diss. Dr. Sci. (Biol.). St. Petersburg, 2014. 607 p. (in Russian).
- Krasnyy spisok osobo okhranyaemykh redkikh i nakhodyaschikhsya pod ugrozoy ischezneniya zhivotnykh i rasteniy. Ch. 3.1 (Semennye rasteniya)* [Red list of specially protected rare and endangered animals and plants. Pt. 3.1 (Seed plants)]. Moscow, Nauka Publ., 2004 (2005). 352 p. (in Russian).
- Kucherov E. V., Muldashev A. A., Galeeva A. H. *Krasnaya kniga Respubliki Bashkortostan. T. 1. Redkie i ischezayuschie vidy vysshikh sosudistykh rasteniy* [Red book of the Bashkortostan of Republic. Vol. 1. Rare and endangered species of higher vascular plants]. Ufa, Kitap Publ., 2001. 280 p. (in Russian).
- Krasnaya kniga Respubliki Bashkortostan. T.1. Rasteniya i gribi* [Red book of the Bashkortostan of Republic. Vol. 1. Plants and mushrooms]. Ufa, MediaPrint Publ., 2011. 384 p. (in Russian).
- Ilina V. N. *Ontogeneticheskii atlas rastenii* [Ontogenetic atlas of plants. Ed. L. A. Zhukova]. Joshkar-Ola, MarGU Publ., 2011, vol. VI. 336 p. (in Russian).
- Rabotnov T. A. The life cycle of perennial herbaceous plants in meadow cenoses. *Tr. BIN AN SSSR. Ser. 3. Geobotanika*, vol. 6. Moscow, Leningrad, Izd-vo AN SSSR, 1950, pp. 7–204 (in Russian).



13. Uranov A. A. Age range of fitocenose as a function of time and energetic wave processes. *Biologicheskie nauki* [Biological Sciences], 1975, no. 2, pp. 7–34 (in Russian).
14. *Tsenopopulyatsii rasteniy (osnovnye ponyatiya i struktura)* [Coenopopulations of plants (basic concepts and structure)]. Moscow, Nauka Publ., 1976. 217 p. (in Russian).
15. Zhukova L. A. *Populyatsionnaya zhizn' lugovykh rasteniy* [Population lives of meadow plants]. Joshkar-Ola, RIIK «Lanar» Publ., 1995. 224 p. (in Russian).
16. Glotov N. V. Ob otsenke parametrov vozrastnoy struktury populyatsiy rasteniy [On the estimation of the parameters of the age structure of plant populations]. In: *Zhizn' populyatsiy v geterogennoy srede. Ch. 1.* [Life of populations in a heterogeneous environment. Pt. 1]. Joshkar-Ola, MarGU Publ., 1998, pp. 146–149 (in Russian).
17. Zhivotovsky L. A. Ontogenetic state, effective density and classification of plant populations. *Russ. J. Ecology*, 2001, vol. 32, no. 1, pp. 1–5 (in Russian). DOI: 10.1023/A:1009536128912
18. Zaytsev G. N. *Matematika v eksperimental'noy biologii* [Mathematics in experimental biology]. Moscow, Nauka Publ., 1990. 296 p. (in Russian).
19. Uranov A. A., Smirnova O. V. Classification and main features of populations of perennial plants. *Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological Ser.*, 1969, vol. 79, no. 1, pp. 119–135 (in Russian).

Cite this article as:

Abramova L. M., Mustafina A. N., Karimova O. A. Ontogenetic Structure and Population Status of the Relict Species of *Hedysarum gmelinii* Ledeb. in the Cis-Urals Republic of Bashkortostan. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 350–356 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-350-356>



УДК 58.073

Генетический полиморфизм в популяциях *Hieracium × robustum* (Asteraceae) как результат деятельности фитофага-галлообразователя *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae)



Т. А. Крицкая, А. С. Кашин, В. В. Аникин, М. И. Никельшпарг

Крицкая Татьяна Алексеевна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии и цитогенетики, Учебно-научный центр «Ботанический сад», Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, kritckaiata@gmail.com

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, kashinas2@yandex.ru

Аникин Василий Викторович, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры морфологии и экологии животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, anikinvasiliiv@mail.ru

Никельшпарг Матвей Ильич, ученик МАОУ «Гимназия № 3» г. Саратова, matveynikel@yandex.ru

С помощью генетических межмикросателлитных маркеров (ISSR) изучен полиморфизм в популяциях *Hieracium × robustum* (Asteraceae) – растения-хозяина галлообразователя *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera, Cynipidae). В каждой популяции анализировали растения *H. × robustum* со стеблевыми галлами орехотворки и без них. Установлено, что у отдельно взятых особей без галлов ISSR-фрагментов было в два раза меньше по сравнению с растениями, поврежденными орехотворкой. Все они имели четкий паттерн в агарозном геле, в то время как паттерны особей с галлами были хаотичны. Анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) также показал, что значительная доля дисперсии обусловлена вариабельностью фрагментов, полученных от особей с галлами. Кластерный анализ (UPGMA) достоверно разделил всю исследуемую выборку на два кластера. Первый кластер объединил особи *H. × robustum* с галлами, второй – особи без галлов. При отдельном анализе только особей без галлов выборка разбивается на кластеры в полном соответствии с географическим происхождением образцов. Включение же в матрицу фрагментов, полученных от растений с галлами орехотворки, привело к значительному искажению и бессистемности результатов.

Ключевые слова: ISSR, стеблевые галлы, орехотворка, контаминация ДНК.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-357-363>

Растения и насекомые сосуществуют на Земле более 350 млн лет. В ходе коэволюции и те и другие стараются избежать защитных систем друг друга. Эта эволюционная «гонка воору-

жений» привела к развитию у растений тонко организованной защитной системы, способной распознавать чужеродные молекулы и специфические сигналы от клеток, поврежденных насекомыми [1, 2].

Повреждение фитофагами вызывает в растении незамедлительную экспрессию генов, отвечающих за фотосинтез, электронный транспорт, цитоскелет, метаболизм углерода и азота, сигнальную систему, а также группы генов, реагирующих на стресс, ранение или вторжение патогенов, и как следствие, полную функциональную реорганизацию транскрипции [3]. Чтобы противостоять атаке фитофагов, растения образуют специализированные морфологические структуры или вторичные метаболиты и белки, вызывающие отталкивающие и токсические эффекты [4]. Насекомые, в свою очередь, вынуждены изменять свой метаболизм, чтобы обойти защитную систему растений. Одним из путей преодоления иммунитета растений является синтез симбиотической микрофлорой насекомого полезных для растения веществ [5], таких как гормоноподобные регуляторы роста.

На примере популяций ястребинки мугай (*Hieracium × robustum* Fr.) из Саратовской области было показано, что растения со стеблевыми галлами, образованными в результате жизнедеятельности фитофага-галлообразователя *Aulacidea hieracii* из отряда перепончатокрылых (Hymenoptera, Cynipidae), отличались увеличением массы вегетативных органов и большим количеством соцветий по сравнению с растениями, не имеющими галлов [6]. Однако присутствие во всех изученных популяциях *H. × robustum* определенной доли растений, не поврежденных орехотворкой, позволяет предполагать наличие качественных различий между растениями в популяции и возможной микроэволюции таксона.

В данной работе мы попытались оценить внутри- и межпопуляционные различия между растениями *H. × robustum* со стеблевыми галлами орехотворки и без них с помощью генетических межмикросателлитных маркеров (ISSR), хорошо



зарекомендовавших себя в большом количестве популяционных исследований представителей трибы *Cichorieae* семейства *Asteraceae*.

Сбор материала проводили в трех естественных популяциях *H. × robustum*: в окрестностях пос. Юбилейный в Волжском районе г. Саратова (6 образцов: 3 – с галлами, 3 – без галлов), лесопарка «Кумысная поляна» в Заводском районе г. Саратова (2 образца: 1 – с галлами, 1 – без галлов) и с. Ягодная Поляна Татищевского района Саратовской области (2 образца: 1 – с галлами, 1 – без галлов). Особи *H. × robustum* со стеблевыми галлами орехотворки и без галлов гербализировали и хранили до начала исследования отдельно друг от друга.

ДНК выделяли из язычковых цветков соцветия без признаков механического повреждения с помощью коммерческих наборов DiaGene (Bio Silica, Новосибирск) на колонках согласно протоколу производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в амплификаторе Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany) с 12 ISSR-праймерами (табл. 1), синтезированными НПК «Синтол» (Москва). Выбор праймеров производили с учетом уже имеющихся литературных данных по другим родам трибы *Cichorieae* семейства *Asteraceae* [7, 8]. Для приготовления реакционной смеси были использованы реагенты Ready-To-Load Master-mix 5X Mas^{DD}TaqMIX-2025 (Диалат Лтд., Москва).

Таблица 1 / Table 2

ISSR праймеры, амплифицирующие информативные фрагменты ДНК *H. × robustum*
ISSR primers producing informative DNA fragments of *H. × robustum*

Название праймера / Primer code	Последовательность 5'-3'/ Sequence 5'-3'	Количество полиморфных фрагментов / Number of polymorphic loci	
		Все образцы / All specimen	Образцы без галлов / Specimen without galls
ISSR 3	(AG) ₉ C	17	8
ISSR 4	(AC) ₉ G	20	7
ISSR 5	(AC) ₈ CG	37	16
ISSR 18	(ACTG) ₅	21	11
“Aster”	(TG) ₈ RC	14	6
UBC 810	(GA) ₈ T	26	14
UBC 811	(GA) ₈ C	25	12
UBC 813	(CT) ₈ T	16	6
UBC 834	(AG) ₈ YT	29	14
UBC 835	(AG) ₈ YC	11	5
UBC 841	(GA) ₈ YC	15	8
UBC 843	(CT) ₈ RA	19	3
Всего:		250	110

Примечание. R = A, G; Y = C, T.

Note. R = A, G; Y = C, T.

Разделение продуктов амплификации проводили электрофоретически в 1.5%-ном агарозном геле. Фрагменты ДНК визуализировали с помощью трансиллюминатора (Vilber Lourmat, Франция) и фотографировали с помощью гель-документирующей системы (Doc-print VX2, Германия). Типирование ISSR фрагментов было представлено в виде матрицы наличия или отсутствия фрагментов, закодированных как «1» или «0» соответственно.

Итоговая матрица включала 250 ISSR фрагментов, амплифицированных из 10 образцов из трех популяций. Анализ полученной матрицы проводили в программе PAST ver. 3.0. [9] классификацией методом невзвешенного попарно-

группового среднего (UPGMA) с использованием коэффициента Жаккара. Оценку генетической дифференциации исследованных выборок проводили в программе Arlequin ver. 3.5 [10] с помощью анализа молекулярной дисперсии (AMOVA).

Всего в результате ПЦР с 12 ISSR праймерами получено 250 полиморфных фрагментов, их длина варьировала в пределах от 200 до 3000 пн. Согласно результатам AMOVA, при разбиении всей выборки на три группы в соответствии с их географическим происхождением около 90% дисперсии приходится на внутрипопуляционные различия, а именно различия между особями с галлами и без галлов. Межпопуляционная дисперсия в данном случае недостоверна (табл. 2).



Таблица 2 / Table 2

Результаты анализа молекулярной дисперсии (AMOVA) популяций *H. × robustum*
AMOVA results for populations *H. × robustum*

Изменчивость / Variability	d. f.	Сумма квадратов / Sum of squares	Доля дисперсии, % / % of variation
Три группы согласно географическому положению / Grouping of the populations according to their geographical position			
Между группами / Between the groups	2	111.07	10.86 ^{ns}
Внутри групп / Between the populations within the group	7	289.83	89.14
Две группы: с галлами орехотворки и без галлов / Two groups: with galls and without galls			
Между группами / Between the groups	1	119.30	32.33***
Внутри групп / Between the populations within the group	8	281.60	67.67

Примечание. Уровни достоверности определены на основании 1000 пермутаций матрицы; *** p (наблюдаемая величина \geq случайная величина) ≤ 0.0001 ; ^{ns} – не достоверно.

Note. The statistical significance levels were determined on the basis of 1000 permutations of the matrix; *** p (observed value \geq random value) ≤ 0.0001 ; ns – not significant.

У отдельно взятых особей без галлов маркеров было в 2 раза меньше (см. табл. 1). При разбиении всей выборки на две группы, первая из которых представлена только особями без галлов, а вторая только особями с галлами, независимо от географического происхождения результаты AMOVA оказались высоко достоверными ($p < 0.0001$). При этом преобладающая доля дисперсии осталась на уровне внутригрупповой

изменчивости (см. табл. 2). Из рис. 1 видно, что особи популяции из пос. Юбилейный без галлов имеют четкий паттерн в агарозном геле и полностью идентичны друг другу, в то время как паттерны особей с галлами орехотворки хаотичны. Очевидно, что значительная доля внутригрупповой дисперсии обусловлена главным образом вариабельностью фрагментов, полученных от особей с галлами.

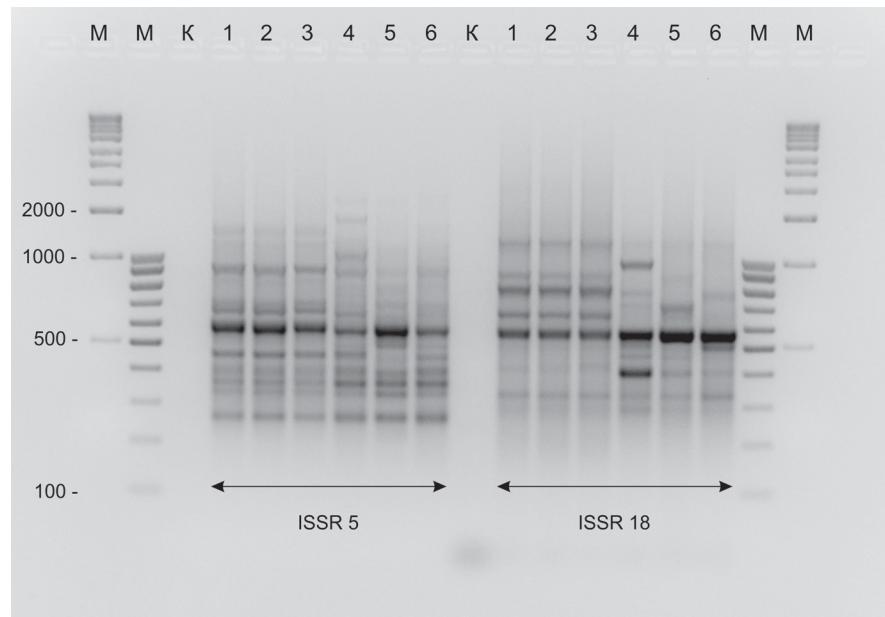


Рис. 1. Результат электрофореза фрагментов ДНК, полученных при использовании праймеров ISSR5 и ISSR18 для популяции *H. × robustum* в окр. пос. Юбилейный Саратовской области: M – маркер молекулярного веса; K – отрицательный контроль; 1–3 – особи без галлов; 4–6 – особи с галлами

Fig. 1. The result of electrophoresis of DNA fragments obtained using the primers ISSR5 and ISSR18 for the population of *H. × robustum* in the vicinity of the village of Yubileiny Saratov region: M – molecular weight marker; K – negative control; 1–3 – individuals without galls; 4–6 – individuals with galls



Кластерный анализ (UPGMA) достоверно разделил исследуемую выборку на два кластера (рис. 2, *a*). Первый кластер объединил особи *H. × robustum* с галлами, второй – особи без галлов. Внутри первого кластера высокую бутстреп поддержку (100%) получили два кластера тре-

тьего порядка, в один из которых вошли образцы популяций с Кумысной поляны и из Ягодной Поляны, в другой – образцы из пос. Юбилейный. Внутри второго кластера обособленным является лишь образец из Ягодной Поляны, в то время как остальные узлы поддержки не имеют.

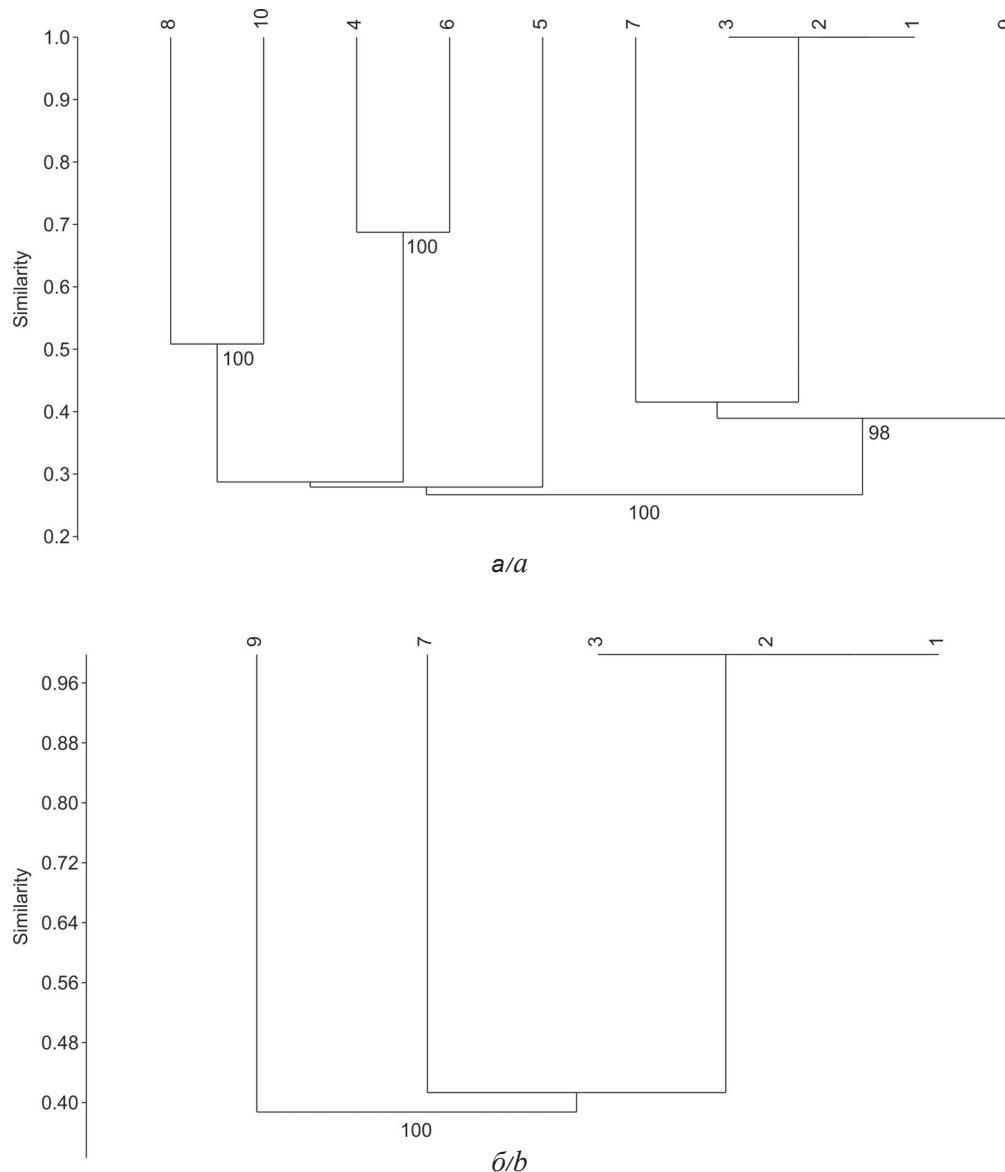


Рис. 2. UPGMA-дендrogramма, построенная на основе ISSR данных для *H. × robustum* с использованием коэффициента Жаккара: *a* – результат кластеризации всех образцов, включенных в сравнительный анализ; *b* – результат кластеризации только образцов растений без галлов. Бутстреп = 100 реплик. 1–6 – особи популяции в окрестностях пос. Юбилейный г. Саратова (1–3 – без галлов, 4–6 – с галлами); 7–8 – особи популяции лесопарка «Кумысная поляна» г. Саратова (7 – без галлов, 8 – с галлами); 9–10 – особи популяции с. Ягодная Поляна Саратовской области (9 – без галлов, 10 – с галлами)

Fig. 2. UPGMA-dendrogram built on the basis of ISSR data for *H. × robustum*, using the Jaccard coefficient: *a* – the result of clustering all samples included in the comparative analysis; *b* – the result of clustering only samples of plants without galls. Bootstrap = 100 replicas. 1–6 – individuals of the population in the vicinity of the Yubileiny village of Saratov (1–3 without galls, 4–6 with galls); 7–8 – individuals of the “Kumysnaya Polyana” forest park of the city of Saratov (7 without galls, 8 with galls); 9–10 – individuals of the population of the village Yagodnaya Polyana, Saratov region (9 – without galls, 10 – with galls)



При отдельном анализе только особей без галлов выборка также разбивается на два кластера, первый из которых представлен образцом из Ягодной Поляны, второй – объединенными образцами из популяций пос. Юбилейный и Кумысной поляны (рис. 2, б). То есть полученная дендрограмма топологически идентична второму кластеру общей дендрограммы на рис. 2, а. В отличие от общей, эта дендрограмма позволяет визуализировать вполне прогнозируемый и легко интерпретируемый результат.

Популяции пос. Юбилейный и Кумысной поляны разделяет расстояние всего около 10 км, и препятствия для потока генов между ними отсутствуют. Генетическая идентичность особей популяции в пос. Юбилейный может быть объяснена формированием популяции в результате единичного заноса семян на эту территорию с последующим клоновым характером воспроизведения. Обособленность популяции из Ягодной Поляны обусловлена, по-видимому, ее относительной географической удаленностью, более чем на 50 км, как от популяции пос. Юбилейный, так и от популяции Кумысной поляны.

Включение же в матрицу паттернов, полученных от растений с галлами орехотворки, привело к значительному искажению и бессистемности результатов. Можно выдвинуть все альтернативные гипотезы, объясняющие причины этого искажения.

Гипотеза 1. Несмотря на то что для проведения ПЦР отбирались неповрежденные части растения, в анализе участвовала чужеродная ДНК. Учитывая то, что ISSR маркеры успешно используются для популяционно-генетических исследований различных групп насекомых [11–13], есть все основания предположить, что чужеродная ДНК принадлежит орехотворке и, очевидно, циркулирует по проводящей системе растения. В этом случае полученные нами результаты подтверждают общеизвестные рекомендации, согласно которым недопустимо отбирать растения со следами повреждения животными для популяционно-генетических исследований [14]. Так как сама орехотворка является средой обитания различных симбиотических микроорганизмов, которые попадают в организм растения с ее выделениями и продуктами жизнедеятельности, а механические повреждения тканей растения, вызванные ею, являются воротами для различных вирусов и бактерий, ДНК растения со стеблевыми галлами следует рассматривать как метагеном и применять соответствующие методы для его изучения.

Гипотеза 2. Своеобразие ISSR паттернов растений с галлами может быть связано с изменением сайтов узнавания праймера в результате модификации ДНК. В этом случае сама орехотворка или ее симбиотическая микрофлора является источником транспозонов, способных внедряться в геном растения и служить источником новых факторов транскрипции [15], обусловливающих увеличение количества и массы всех органов, которое наблюдалось у пораженных орехотворкой растений *H. × robustum* [6].

Таким образом, насекомое-галлообразователь *A. hieracii* значительно искажает результаты исследования генома растения-хозяина *H. × robustum*. Причины этого искажения спорны. Тем не менее выбранные объекты представляют собой удобную модель для дальнейших исследований, способных пролить свет на понимание молекулярных механизмов взаимодействия фитофага-галлообразователя и растения-хозяина, а также на роль галлообразователей в адаптивной эволюции покрытосеменных растений.

Список литературы

1. Howe G. A., Jander G. Plant immunity to insect herbivores // Annual Review of Plant Biology. 2008. Vol. 59. P. 41–66. DOI: 10.1146/annurev.aplant.59.032607.092825
2. Verhage A., Wees S. C. M. van, Pieterse C. M. J. Plant immunity: it's the hormones talking, but what do they say? // Plant Physiology. 2010. Vol. 154. P. 536–540. DOI: 10.1104/pp.110.161570
3. Hermsmeier D., Schittko U., Baldwin I. T. Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*: I. Large-scale changes in the accumulation of growth- and defense-related plant mRNAs // Plant Physiology. 2001. Vol. 125. P. 683–700. DOI: 10.1104/pp.125.2.683
4. Giri A. P., Wünsche H., Mitra S., Zavala J. A., Muck A., Svatoš A., Baldwin I. B. Molecular Interactions between the Specialist Herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and Its Natural Host *Nicotiana attenuata*. VII. Changes in the Plant's Proteome // Plant Physiology. 2006. Vol. 142. P. 1621–1641. DOI: 10.1104/pp.106.088781
5. Конарев А. В. Молекулярные аспекты иммунитета растений и их коэволюции с насекомыми // Биосфера. 2017. Т. 9, № 1. С. 79–99.
6. Аникин В. В., Никельштарг М. И. Эффект увеличения числа листьев на растениях *Hieracium × robustum* (Asteraceae) при их заселении галлобразователем *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae) // Бюл. Бот. сада Сарат. гос. ун-та. 2018. Т. 16, вып. 4. С. 49–54.
7. Ryu J., Bae C.-H. Genetic diversity and relationship analysis of genus *Taraxacum* accessions collected in Korea // Korean Journal of Plant Resources. 2012. Vol. 25, № 3. P. 329–338.



8. Каинин А. С., Крицкая Т. А., Попова А. О., Пархоменко А. С. Генетическая дифференциация видов *Chondrilla* (Asteraceae) Европейской части России по данным ISSR-маркирования // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. 2017. Т. 122, вып. 1. С. 60–70
9. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST : Palaeontologica Statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica. 2001. Vol. 4, № 1. P. 9.
10. Excoffier L., Lischer H. E. L. Arlequin suite ver 3.5 : A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // Molecular Ecology Resources. 2010. Vol. 10. P. 564–567.
11. Grasela J. J., McIntosh A. H. Application of Inter-Simple Sequence Repeats to insect cell lines: identification at the clonal and tissue-specific level // In vitro Cellular and Developmental Biology – Animal. 2003. Vol. 39. P. 353–363.
12. Shouhani H., Dousti A., Radjabi R., Zarei M. Application of ISSR to study the genetic diversity of honeybee (*Apis mellifera* L.) populations in some areas of Iran // Journal of Bioscience and Biotechnology. 2014. Vol. 3, № 2. P. 127–131.
13. Xie J.-N., Guo J.-J., Jin D.-C., Wang X.-J. Genetic Diversity of *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae) in China Detected by Inter-Simple Sequence Repeats // Journal of Insect Science. 2014. Vol. 14, № 233. DOI: 10.1093/jisesa/ieu095
14. Куцев М. Г. Фрагментный анализ ДНК растений : RAPD, DAF, ISSR. Барнаул : ARTIKA, 2009. 164 с.
15. Biémont C., Vieira C. Genetics : junk DNA as an evolutionary force // Nature. 2006. Vol. 443, № 7111. P. 521–524.

Образец для цитирования:

Крицкая Т. А., Каинин А. С., Аникин В. В., Никельшпарг М. И. Генетический полиморфизм в популяциях *Hieracium × robustum* (Asteraceae) как результат деятельности фитофага-галлообразователя *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae) // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 357–363. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-357-363>

Genetic Polymorphism in Populations of *Hieracium × robustum* (Asteraceae) as Result of the Hallabrottet *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae) Influence

T. A. Kritskaya, A. S. Kashin, V. V. Anikin, M. I. Nikelshparg

Tatyana A. Kritskaya, <https://orcid.org/0000-0003-0181-3022>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, kritckaiata@gmail.com

Alexandr S. Kashin, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, kashinas2@yandex.ru

Vasily V. Anikin, <https://orcid.org/0000-0001-8575-5418>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, anikinvasiliiv@mail.ru

Matvey I. Nikelshparg, Municipal Educational Institution "Gymnasium № 3" of Saratov, 121 Bolshaya Kazach'ya St., Saratov 410012, Russia, matveynikel@yandex.ru

Based on Inter Simple Sequence Repeats (ISSR), we examined polymorphism in populations of *Hieracium × robustum* (Asteraceae) – the host of gall-making *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera, Cynipidae). In each population, we studied *H. × robustum* specimens with and without stem galls induced by gall wasps. It was revealed that individual gall-free plants have half as much ISSR fragments as plants contaminated by galls. In agarose gel, ISSR fragments of the former have clear-cut patterns while patterns of gall-contaminated plants are shapeless. Also, molecular dispersion analysis (AMOVA) shows that a significant proportion of dispersion is due to the variability of fragments obtained from gall-contaminated specimens. Cluster analysis (UPGMA) subdivides the sample into two clusters. The first was constituted by

H. × robustum specimens with galls; the second comprised gall-free specimens. When cluster analysis was carried out exclusively on gall-free specimens, the obtained clusters were in complete correspondence with the geographic origins of the specimens. However, when fragments of gall-contaminated plants were added to the matrix, it distorted the analysis and gave inconsistent results.

Key words: ISSR, stem galls, gall wasp, DNA contamination.

References

1. Howe G. A., Jander G. Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, vol. 59, pp. 41–66. DOI: 10.1146/annurev.aplant.59.032607.092825
2. Verhage A., van Wees S. C. M., Pieterse C. M. J. Plant immunity: it's the hormones talking, but what do they say? *Plant Physiology*, 2010, vol. 154, pp. 536–540. DOI: 10.1104/pp.110.161570
3. Hermsmeier D., Schittko U., Baldwin I. T. Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*: I. Large-scale changes in the accumulation of growth- and defense-related plant mRNAs. *Plant Physiology*, 2001, vol. 125, pp. 683–700. DOI: 10.1104/pp.125.2.683
4. Giri A. P., Wünsche H., Mitra S., Zavala J. A., Muck A., Svatoš A., Baldwin I. B. Molecular Interactions between the Specialist Herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and Its Natural Host *Nicotiana attenuata*. VII. Changes in the Plant's Proteome. *Plant Physiology*, 2006, vol. 142, pp. 1621–1641. DOI: 10.1104/pp.106.088781
5. Konarev A. V. Molecular aspects of plant immunity and their coevolution with insects. *Biosfera*, 2017, vol. 9, no. 1, pp. 79–99 (in Russian). DOI: 10.24855/biosfera.v9i1.325



6. Anikin V. V., Nikelshparg M. I. The effect of increasing the number of leaves on plants *Hieracium × robustum* (Asteraceae) at their settling by gall-former *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae). *Bulletin of Botanic Garden of Saratov State University*, 2018, vol. 16, no. 4, pp. 49–54 (in Russian). DOI: 10.18500/1682-1637-2018-4-49-54
7. Ryu J., Bae C.-H. Genetic diversity and relationship analysis of genus *Taraxacum* accessions collected in Korea. *Korean Journal of Plant Resources*, 2012, vol. 25, no. 3, pp. 329–338. DOI: 10.7783/KJMCS.2011.19.3.149
8. Kashin A. S., Kritskaya T. A., Popova A. O., Parkhomenko A. S. ISSR analysis of genetic diversity of *Chondrilla* species (Asteraceae) in European part of Russia. *Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological series*, 2017, vol. 122, no. 1, pp. 60–70 (in Russian).
9. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Palaeoontologica Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 2001, vol. 4, no. 1, pp. 9.
10. Excoffier L., Lischer H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 2010, vol. 10, pp. 564–567. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x
11. Grasela J. J., McIntosh A. H. Application of Inter-Simple Sequence Repeats to insect cell lines: identification at the clonal and tissue-specific level. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Animal*, 2003, vol. 39, pp. 353–363. DOI: 10.1290/1543-706X(2003)039<0353:AOISRT>2.0.CO;2
12. Shouhani H., Dousti A., Radjabi R., Zarei M. Application of ISSR to study the genetic diversity of honeybee (*Apis mellifera* L.) populations in some areas of Iran. *Journal of Bioscience and Biotechnology*, 2014, vol. 3, no. 2, pp. 127–131. DOI: 10.13140/2.1.1140.5448
13. Xie J.-N., Guo J.-J., Jin D.-C., Wang X.-J. Genetic Diversity of *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae) in China Detected by Inter-Simple Sequence Repeats. *Journal of Insect Science*, 2014, vol. 14, no. 233. DOI: 10.1093/jisesa/ieu095
14. Kutsev M. G. *Fragmentnyy analiz DNK rasteniy: RAPD, DAF, ISSR* [Fragment analysis of plant DNA: RAPD, DAF, ISSR]. Barnaul, ARTIKA Publ., 2009. 164 p. (in Russian).
15. Biémont C., Vieira C. Genetics: junk DNA as an evolutionary force. *Nature*, 2006, vol. 443, no. 7111, pp. 521–524. DOI: 10.1038/443521a

Cite this article as:

Kritskaya T. A., Kashin A. S., Anikin V. V., Nikelshparg M. I. Genetic Polymorphism in Populations of *Hieracium × robustum* (Asteraceae) as Result of the Hallabrottet *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae) Influence. *Izv. Saratov Univ. (N. S.)*, Ser. Chemistry. Biology. Ecology, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 357–363 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-357-363>

ЭКОЛОГИЯ

УДК 595.796

Изменение пищевого спектра муравьев рода *Formica s. str.* (Нутоптера, Formicidae) на территориях Саратовской области с антропогенной нагрузкой

Н. С. Мулдагалиева

Мулдагалиева Надежда Сергеевна, аспирант кафедры морфологии и экологии животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Nadya1818@yandex.ru

Муравьи участвуют в почвообразовании, регуляции численности насекомых и распространении растений и в связи с этим являются неотъемлемым компонентом экосистем. В лесах средней полосы России наиболее заметны виды рода *Formica*. На территориях, подвергнутых антропогенной нагрузке, изменяется характер питания муравьев в сторону уменьшения его разнообразия и количества. Исследование проводили на территории природного парка «Кумысная поляна» в г. Саратове. Лесопарк испытывает на себе антропогенную нагрузку в связи с тем, что находится в пешей доступности для горожан и на территории крупного промышленного центра – г. Саратова. Для изучения особенностей питания у муравьев изымали добычу, приносимую в муравейник. Для сравнения использовали муравьев, населяющих особо охраняемую природную территорию – национальный парк «Хвалынский». За время наблюдений в числе добычи были зарегистрированы беспозвоночные из 12 таксономических групп. Большая часть пищевого спектра представлена насекомыми из двух отрядов – перепончатокрылые (21,6%) и жесткокрылые (21,6%). Значительных различий в питании муравьев в разные годы не обнаружено. Установлено уменьшение количества добычи, приносимой в гнезда муравьями рода *Formica*, по сравнению с семьями, обитающими на охраняемых природных территориях. Данный факт может свидетельствовать об уменьшении численности и деградации муравьиных семей на территории с высокой антропогенной нагрузкой.

Ключевые слова: муравьи, пищевой спектр, *Formica*, г. Саратов, антропогенная нагрузка.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-364-368>

Муравьи – неотъемлемая группа природных сообществ, участвующая в почвообразовании, являющаяся опылителями, хищниками, потребителями семян и пади и источником пищи для других животных, играет важную роль в экосистемах [1]. Велика роль муравьев в формировании черноземных пятен среди солонцов в лесостепных районах [2]. Их эффективность связана с социальной организацией, способностью изменять место обитания и потреблять разнообразные пищевые ресурсы. Представители рода *Formica* являются обычными элементами фауны насекомых лесных биотопов [3]. Муравьи рода *Formica* – облигатные доминанты муравьиных сообществ, в связи с чем в средней полосе России они играют значительную роль в лесных экосистемах [4], а также из-за относительно крупных размеров и многочисленности семей.

Широта экологических характеристик делает муравьев удобным модельным объектом для изучения закономерностей антропогенного изменения биогеоценозов [5]. В рамках данной работы



была поставлена цель изучить, как под влиянием антропогенной нагрузки изменяется состав добычи муравьев.

В добыче муравьев как хищников-полифагов встречается свыше 130 видов беспозвоночных. Вместе с тем отмечают сильное изменение состава добычи муравьев в сторону обеднения ее разнообразия и уменьшения количества на территориях, подвергающихся антропогенной нагрузке [6, 7].

Материалы и методы

На протяжении летне-осеннего периода 2016–2018 гг. были проведены наблюдения на двух муравейниках, расположенных в дубраве на территории природного парка «Кумысная поляна». Гнезда, служившие объектом наблюдения в 2016 г., на следующий год из-за их разорения обнаружены не были, поэтому для исследования в 2017 г. были выбраны два других муравейника, наблюдения за которыми были продолжены в 2018 г. Для сравнения использовали рыжих лесных муравьев, обитающих в национальном парке «Хвалынский». Наблюдения за ними проводили весной и летом в 2013, 2014 и 2016 гг. Сбор материала для исследования происходил в дневные часы. Для изучения кормовых объектов в течение часа утром и вечером отбирали у муравьев их «ношу». За время наблюдений в природном парке «Кумысная поляна» было изъято 218 кормовых объектов (134 в 2016 г., 35 в 2017 г., 49 в 2018 г.). Также во время наблюдений измеряли температуру приземного слоя воздуха.

Результаты и их обсуждение

Природный парк «Кумысная поляна» расположен на Лысогорском плато с запада от г. Саратова. Абсолютная высота плато составляет 282 м. Выделяются плоские водораздельные поверхности и расчлененные склоны плато, изрезанные ущельями и оврагами. На данной территории преобладают широколиственные леса. Основные породы – дуб, клен, липа, береза и осина. Природный парк «Кумысная поляна» подвержен антропогенной нагрузке ввиду того, что является излюбленным местом отдыха горожан, расположен в пешей доступности в черте крупного промышленного города. Территория испытывает на себе следующее антропогенное влияние:

- пожары из-за неконтролируемого разведения костров;
- незаконная вырубка лесов и застройка;
- въезд автотранспорта на территорию природного парка;
- замусоренность территории.

ФГБУ «Национальный парк «Хвалынский»» имеет статус особо охраняемой природной территории. Он расположен в Хвалынском районе в северо-восточной части Саратовского Правобережья.

Как показали результаты наблюдений, основной добычей изученных муравьев были мелкие (не более 25 мм) беспозвоночные из 12 таксономических групп. В основном это представители следующих отрядов насекомых и их личинок: Hymenoptera, Coleoptera, Diptera, Orthoptera, Lepidoptera, Hemiptera, Neuroptera и Dermaptera. Из других классов – мокрицы (класс Malacostraca, отряд Isopoda), пауки (класс Arachnida, отряд Aranei), многоножки (класс Chilopoda, отряд Lithobiomorpha), из класса малошетинковых червей (Oligochaeta) – дождевые черви (отряд Haplotaxida, сем. Lumbricidae). Немногим меньше половины добычи составляют насекомые из двух отрядов – перепончатокрылые (23,7%) и жуки (21,3%). Меньше приходится на двукрылых (13%), прямокрылых (9,5%) и чешуекрылых (7,1%). Оставшиеся семь групп составляют менее 15% добычи муравьев.

Соотношение разных групп в добыче муравьев по годам представлено на рисунке.

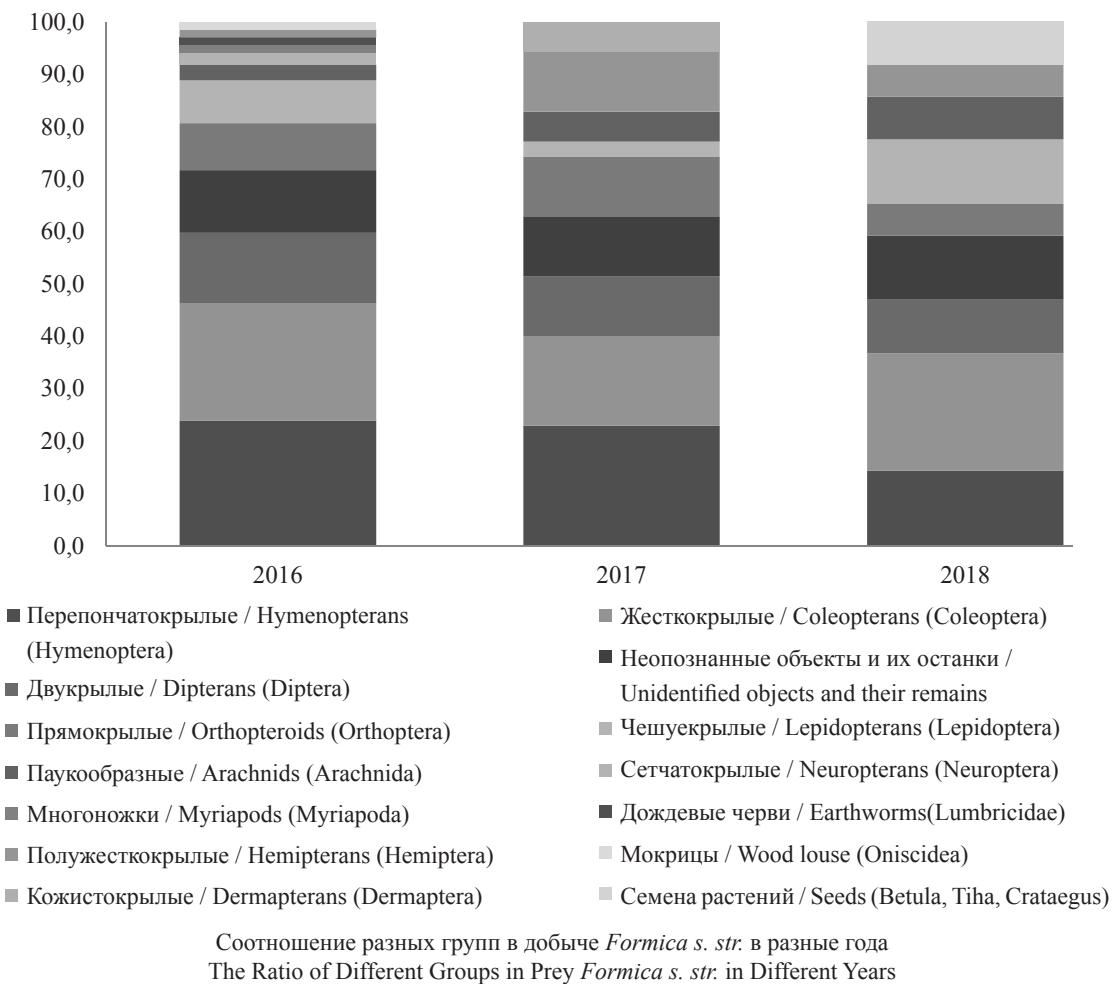
В 2016 г. около 75% добычи состояло из насекомых из следующих пяти отрядов: Hymenoptera (23,9%), Coleoptera (22,4%), Diptera (13,4%), Orthoptera (9%) и Lepidoptera (8,2%).

В 2017 г. также около 75% добычи составляли насекомые из пяти отрядов: Hymenoptera (22,9%), Coleoptera (17,1%), Diptera (11,4%), Orthoptera (11,4%) и Hemiptera (11,4%).

В 2018 г. около 80% спектра занимают представители семи групп: Coleoptera (22,4%), Hymenoptera (14,3%), Lepidoptera (12,2%), Diptera (10,2%), Aranei (8,2%), Orthoptera (6,1%) и Hemiptera (6,1%). Таким образом, в основе рациона муравьев в разные годы мы наблюдаем несущественную разницу.

Важно отметить малочисленность приносимой добычи. В 2016 г. за час наблюдений было изъято в среднем 5,4 объекта, в 2017 г. – 4,4 и в 2018 г. – 4,1. Белковая пища, а у муравьев это в основном различные беспозвоночные, составляет основу питания личинок [8]. И такое небольшое количество белковой добычи может говорить о деградации и малочисленности муравьиных семей на территории с высокой антропогенной нагрузкой.

В национальном парке «Хвалынский» добыча представлена насекомыми из 11 отрядов, а также пауками, мокрицами и дождевыми червями. Почти 75% добычи представлены насекомыми из четырех отрядов: двукрылые (30,6%), чешуекрылые (15,8%), перепончатокрылые (15,7%) и жестокрылые (12,2%). В среднем за час наблюдений



в гнездо было принесено более 30 особей беспозвоночных. А за сутки при активной фуражировке на протяжении 15–16 ч по семи дорогам – это более 3000 экземпляров [9–12].

В лесах на территории Кузнецко-Салаирской горной местности у разных видов рода *Formica* в питании зафиксировано преобладание представителей отрядов двукрылые, полужестокрылые и личинок насекомых [13].

В добыче фуражиров на территории нагорных дубрав Воронежской области отмечено доминирование насекомых (97,9%) среди более 90 семейств беспозвоночных. Личинки чешуекрылых составляли большую часть – 50,9% [14].

В Челябинской области добыча муравьев весьма разнообразна и состоит из представителей пяти классов беспозвоночных. Наиболее разнообразны насекомые – представители 12 отрядов. Среди них преобладают представители отрядов перепончатокрылых, чешуекрылых, двукрылых, равнокрылых, полужестокрылых и жестокрылых насекомых. Из других классов представлены пауки, малощетинковые кольчатые черви и брюхоногие моллюски. Интересно, что в разные годы

среди жертв доминируют представители разных групп [15, 16].

Есть мнение, что интенсивность охотничьей деятельности определяется в большей мере потребностью семьи и количеством потенциальных жертв, чем степенью рекреационной нагрузки, которая, в свою очередь, приводит к угнетению муравьиных семей, что выражается в уменьшении размеров особей, количества гнезд в поселениях и площадей кормовых территорий [17]. Существуют исследования, подтверждающие низкую фуражировочную активность и, следовательно, незначительную роль муравьев в защите леса от вредителей в условиях рекреационной нагрузки [18].

Таким образом, заметного уменьшения разнообразия добычи муравьев, обитающих в лесных массивах, подверженных интенсивным антропогенным нагрузкам, не обнаружено. Но в городской черте среди добычи муравьев отсутствуют стрекозы, ручейники и верблюшки, а в национальном парке – сетчатокрылые и многоножки. Установлено уменьшение более чем в шесть раз количества приносимой добычи по сравнению с семьями муравьев, населяющими охраняемые природные



территории. Малочисленность добычи говорит о низкой продуктивности семей, что может свидетельствовать о деградации муравейников на территориях с высокой антропогенной нагрузкой.

Список литературы

- Рябинин А. С., Новгородова Т. А. Fauna муравьев (Hymenoptera, Formicidae) Южного Зауралья России // Евразиатский энтомол. журнал. 2013. Т. 12, вып. 2. С. 161–166.
- Мильков Ф. Н. Лесостепь Русской равнины. М. ; Л. : Изд-во АН СССР, 1950. 296 с.
- Красильников В. А. Материалы к фауне муравьев (Hymenoptera, Formicidae) заповедника «Присурский» (Чувашская республика) // Научные труды государственного природного заповедника «Присурский». 2017. Т. 32. С. 159–163.
- Дмитриев С. А. Поведение фуражиров-резидентов у муравьев рода *Formica* (Hymenoptera, Formicidae) // XV Съезд Русского энтомологического общества : материалы съезда (Новосибирск, 31 июля – 7 августа 2017 г.). Новосибирск : Гарамонд, 2017. С. 154–155.
- Хоменко В. Н., Радченко А. Г., Макаревич О. Н. Мирмекофауна (Hymenoptera, Formicidae) степных заповедников Украины : зоогеографические аспекты // Вестник зоологии. 2008. Т. 42, вып. 2. С. 105–113.
- Резникова Ж. И. Межвидовые отношения муравьев. Новосибирск : Наука. Сиб. отд-ние, 1983. 207 с.
- Голосова М. А., Мухина О. И., Тихоморова С. М. Пищевой спектр северного лесного муравья *Formica aquilonia* в биотопах с усиленной рекреацией // Лесной вестник. 2006. Вып. 2. С. 68–70.
- Длусский Г. М., Букин А. П. Знакомьтесь : муравьи! М. : Агропромиздат, 1986. 223 с.
- Павлова Н. С. Особенности питания муравьев рода *Formica* (Hymenoptera: Formicidae) на территории национального парка «Хвалынский» (Саратовская область) // XV Съезд Русского энтомологического общества : материалы съезда (Новосибирск, 31 июля – 7 августа 2017 г.). Новосибирск : Гарамонд, 2017. С. 377–378.
- Павлова Н. С., Аникин В. В. Особенности питания и суточной активности муравьев рода *Formica* (Insecta, Hymenoptera) в лесостепных биотопах Саратовской
- области // Поволжский экологический журнал. 2018. № 2. С. 242–248. DOI: 10.18500/1684-7318-2018-2-242-248
- Павлова Н. С., Аникин В. В., Воронин М. Ю. Особенности суточной активности муравьев (Hymenoptera, Formicidae) в Саратовской области // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2013. Т. 13, вып. 4. С. 73–76.
- Павлова Н. С., Аникин В. В., Рига Е. Ю. Особенности биологии муравьев (Hymenoptera, Formicidae) в Национальном парке «Хвалынский» (Саратовская область) // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2015. Т. 15, вып. 4. С. 78–82.
- Радостева А. П. Хищническая деятельность муравьев *Formica* s. str. (Hymenoptera, Formicidae) в Кузнецко-Салаирской горной местности // XV Съезд Русского энтомологического общества : материалы съезда (Новосибирск, 31 июля – 7 августа 2017 г.). Новосибирск : Гарамонд, 2017. С. 417–418.
- Кобзева С. Г. Муравьи нагорных дубрав Воронежской области и их значение в защите леса // Муравьи и защита леса : тез. докл. 8-го Всесоюз. мирмекологического симпозиума (Новосибирск, 4–6 августа 1987 г.). Новосибирск : Биол. ин-т СО АН СССР, 1987. С. 33–34.
- Малоземов Ю. А., Малоземова Л. А. Фуражировочная активность муравьев в очагово-комплексном методе защиты леса // Муравьи и защита леса : тез. докл. 8-го Всесоюз. мирмекологического симпозиума (Новосибирск, 4–6 августа 1987 г.). Новосибирск : Биол. ин-т СО АН СССР, 1987. С. 39–41.
- Соколов Г. И. Первый мирмекологический заказник в Челябинской области // Муравьи и защита леса : тез. докл. 8-го Всесоюз. мирмекологического симпозиума (Новосибирск, 4–6 августа 1987 г.). Новосибирск : Биол. ин-т СО АН СССР, 1987. С. 46–48.
- Бугрова Н. М. Влияние рекреации на рыжих лесных муравьев в лесопарковой зоне Новосибирского академгородка // Муравьи и защита леса : тез. докл. 8-го Всесоюз. мирмекологического симпозиума (Новосибирск, 4–6 августа 1987 г.). Новосибирск : Биол. ин-т СО АН СССР, 1987. С. 65–68.
- Самошилова Н. М., Резникова Ж. И. Рыжие лесные муравьи в условиях рекреационной нагрузки // Муравьи и защита леса : материалы VI Всесоюз. мирмекологического симпозиума (Сангасте, 4–7 сентября 1979 г.). Тарту : Изд-во ин-та зоологии и ботаники АН ЭССР, 1979. С. 42–44.

Образец для цитирования:

Мулдагалиева Н. С. Изменение пищевого спектра муравьев рода *Formica* s. str. (Hymenoptera, Formicidae) на территориях Саратовской области с антропогенной нагрузкой // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 364–368. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-364-368>

Changes in the Food Spectra of Ants of *Formica* s. str. genus (Hymenoptera, Formicidae) in the Territories of the Saratov Region with Anthropogenic Load

N. S. Muldagalieva

Nadezhda S. Muldagalieva, <https://orcid.org/0000-0002-7754-5231>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, Nadya1818@yandex.ru

Ants are essential component of ecosystems. They participate in soil formation, regulate the number of insects and spread the seeds of plants. The species of the genus *Formica* are most noticeable in the forests of the middle zone of Russia. The number and diversity of the prey of ants decreases in the areas experiencing a recreational load. The study was conducted on the territory of the natural park "Kumysnaya Polyana" (Saratov). The forest park is experiencing an anthropogenic load because it is located on the territory of a large industrial center – the city of Saratov. To study the

feeding characteristics of ants food objects brought in the anthill were seized. Ants inhabiting a specially protected natural area - the national park "Khvalynsky" were used for comparison. Invertebrates from 12 taxonomic groups were recorded in the prey. Most of the food spectrum consists of insects of two orders: Hymenoptera (21,6%) and Coleoptera (21,6%). There were no significant differences in the feeding of ants in different years. The decrease in the number of prey has been established in comparison with families living in protected natural areas. This fact may indicate a decrease in the number and degradation of ant families in the areas with a high anthropogenic load.

Keywords: ants, food spectrum, *Formica*, Saratov, anthropogenic load.

References

1. Ryabinin A. S., Novgorodova T. A. Ant fauna (Hymenoptera, Formicidae) of the Southern Trans-Urals of Russia. *Eurasian Entomol. Magazine*, 2013, vol. 12, iss. 2, pp. 161–166 (in Russian).
2. Milkov F. N. *Forest-steppe of the Russian Plain*. Moscow, USSR Academy of Sciences, 1950. 296 p. (in Russian).
3. Krasilnikov V. A. Materials for the ant fauna (Hymenoptera, Formicidae) of the Prisursky reserve (Chuvash Republic). *Scientific Works of the Prisursky State Natural Reserve*, 2017, vol. 32, pp. 159–163 (in Russian).
4. Dmitriev S. A. The behavior of resident foragers in ants of the genus *Formica* (Hymenoptera, Formicidae). *XV Congress of the Russian Entomological Society. Novosibirsk, July 31 – August 7, 2017. Materials of the congress*. Novosibirsk, Garamond Publ., 2017, pp. 154–155 (in Russian).
5. Khomenko V. N., Radchenko A. G., Makarevich O. N. Mirmekofauna (Hymenoptera, Formicidae) of the steppe reserves of Ukraine: zoogeographical aspects. *Bulletin of Zoology*, 2008, vol. 42, iss. 2, pp. 105–113 (in Russian).
6. Reznikova Zh. I. *Interspecies of ants*. Novosibirsk, Nauka, Sib. Otd-niye Publ., 1983. 207 p. (in Russian).
7. Golosova M. A., Mukhina O. I., Tikhomorova S. M. Food spectrum of northern forest ant *Formica aquilonia* in biotopes with enhanced recreation. *Lesnoy Vestnik*, 2006, vol. 2, pp. 68–70 (in Russian).
8. Dlussky G. M., Bukin A. P. Meet the ants! Moscow, Agropromizdat Publ., 1986. 223 p. (in Russian).
9. Pavlova N. S. The feeding habits of ants of the genus *Formica* (Hymenoptera: Formicidae) in the territory of the Khvalynsky National Park (Saratov region). *XV Congress of the Russian Entomological Society. Novosibirsk, July 31 – August 7, 2017. Materials of the congress*. Novosibirsk, Garamond Publ., 2017, pp. 377–378 (in Russian).
10. Pavlova N. S., Anikin V. V. Peculiarities of Feeding and Daily Activity of Ants of Genus *Formica* (Insecta, Hymenoptera) in Forest-Steppe Biotopes of Saratov Region. *Povolzhskiy Journal of Ecology*, 2018, no. 2, pp. 242–248 (in Russian). DOI: 10.18500/1684-7318-2018-2-242-248
11. Pavlova N. S., Anikin V. V., Voronin M. Yu. Features daily activity ants (Hymenoptera, Formicidae) in Saratov region. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2013, vol. 13, iss. 4, pp. 73–76 (in Russian).
12. Pavlova N. S., Anikin V. V., Riga E. Yu. Features of ant biology (Hymenoptera, Formicidae) in the National Park "Khvalynsky" (Saratov region). *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2015, vol. 15, iss. 4, pp. 78–82 (in Russian).
13. Radosteva A. P. The predatory activities of ants *Formica s. str.* (Hymenoptera, Formicidae) in the Kuznetsk-Salair highlands. *XV Congress of the Russian Entomological Society. Novosibirsk, July 31 – August 7, 2017. Materials of the congress*. Novosibirsk, Garamond Publ., 2017, pp. 417–418 (in Russian).
14. Kobzeva S. G. Ants of the upland oak forests of the Voronezh region and their importance in forest protection. *Ants and forest protection. Abstracts of the 8th All-Union Myrmecological Symposium, (Novosibirsk, August 4–6, 1987)*. Novosibirsk, Biol. Inst. of Siberian Branch of the USSR Academy of Sciences, 1987, pp. 33–34 (in Russian).
15. Malozemov Yu. A., Malozemova L. A. Foraging activity of ants in the focal-complex method of forest protection. *Ants and forest protection. Abstracts of the 8th All-Union Myrmecological Symposium, (Novosibirsk, August 4–6, 1987)*. Novosibirsk, Biol. Inst. of Siberian Branch of the USSR Academy of Sciences, 1987, pp. 39–41 (in Russian).
16. Sokolov G. I. The first myrmecological reserve in the Chelyabinsk region. *Ants and forest protection. Abstracts of the 8th All-Union Myrmecological Symposium, (Novosibirsk, August 4–6, 1987)*. Novosibirsk, Biol. Inst. of Siberian Branch of the Academy of Sciences of the USSR, 1987, pp. 46–48 (in Russian).
17. Bugrova N. M. Influence of recreation on red forest ants in the forest-park zone of the Novosibirsk Academgorodok. *Ants and Forest Protection: Abstracts of the 8th All-Union Myrmecological Symposium, (Novosibirsk, August 4–6, 1987)*. Novosibirsk, Biol. Inst. of Siberian Branch of the Academy of Sciences of the USSR, 1987, pp. 65–68 (in Russian).
18. Samoshilova N. M., Reznikova Zh. I. Red forest ants under recreational conditions. *Ants and forest protection: materials of the VI All-Union Myrmecological Symposium (Sangaste, September 4–7, 1979)*. Tartu, Publishing House of the Institute of Zoology and Botany of the Academy of Sciences of the ESSR, 1979, pp. 42–44 (in Russian).

Cite this article as:

Muldagalieva N. S. Changes in the Food Spectra of Ants of *Formica s. str.* genus (Hymenoptera, Formicidae) in the Territories of the Saratov Region with Anthropogenic Load. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 364–368 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-364-368>