

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

**Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Тульский государственный университет»**

**16+
ISSN 2071-6176**

**ИЗВЕСТИЯ
ТУЛЬСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
УНИВЕРСИТЕТА**

ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

Выпуск 2

**Тула
Издательство ТулГУ
2019**

Председатель

Грязев М.В., д-р техн. наук, проф., ректор Тульского государственного университета.

Заместитель председателя

Воротилин М.С., д-р техн. наук, проф., проректор по научной работе.

Ответственный секретарь

Фомичева О.А., канд. техн. наук, доц., начальник Управления научно-исследовательских работ.

Главный редактор *Прейс В.В.*, д-р техн. наук, проф., заведующий кафедрой.

Члены редакционного совета:

Батанина И.А., д-р полит. наук, проф., –

отв. редактор серии «Гуманитарные науки»;

Берестнев М.А., канд. юрид. наук, доц., –

отв. редактор серии «Экономические и юридические науки». Часть 2. «Юридические науки»;

Борискин О.И., д-р техн. наук, проф., –

отв. редактор серии «Технические науки»;

Егоров В.Н., канд. пед. наук, доц., – отв. редактор

серии «Физическая культура. Спорт»;

Заславская О.В., д-р пед. наук, проф., –

отв. редактор серии «Педагогика»;

Качурин Н.М., д-р техн. наук, проф., –

отв. редактор серии «Науки о Земле»;

Понаморева О.Н., д-р хим. наук, доц., –

отв. редактор серии «Естественные науки»;

Сабина А.Л., д-р экон. наук, доц., –

отв. редактор серии «Экономические и юридические науки». Часть 1. «Экономические науки».

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Ответственный редактор

Понаморева О.Н., д-р хим. наук (ТулГУ, г. Тула).

Заместитель ответственного редактора

Горячева А.А., канд. хим. наук (ТулГУ, г. Тула).

Ответственный секретарь

Блохин И.В., канд. хим. наук (Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, г. Тула).

Члены редакционной коллегии:

Алфёров В.А., канд. хим. наук (ТулГУ, г. Тула);

Атрощенко Ю.М., д-р хим. наук (Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, г. Тула);

Иванищев В.В., д-р биол. наук (Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, г. Тула);

Каримов М.Б., д-р хим. наук (Дангаринский государственный университет, г. Дангара, Таджикистан);

Кизим Н.Ф., д-р хим. наук (Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, г. Новомосковск);

Ким Ю.А., д-р физ.-мат. наук (Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино);

Короткова А.А., д-р биол. наук (Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, г. Тула);

Матвейко Н.П., д-р хим. наук (Белорусский государственный экономический университет, г. Минск, Республика Беларусь);

Музафаров Е.Н., д-р биол. наук (ТулГУ, г. Тула),

Решетилов А.Н., д-р хим. наук (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, г. Пущино);

Шахкельдян И.В., д-р хим. наук (Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого, г. Тула).

Сборник зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор). ПИ № ФС77-61106 от 19 марта 2015 г.

Подписной индекс сборника 27845 по Объединённому каталогу «Пресса России».

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 543.4

**ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ МИКРОКАПСУЛЫ
С ИНКАПСУЛИРОВАННОЙ УРЕАЗОЙ: ИЗМЕРЕНИЕ pH СРЕДЫ
ГИДРОФОБНЫМ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМ ЗОНДОМ**

Е.А. Ягольник, М.Г. Фомкина, Е.А. Замятина, Н.О. Аппазов,
С.Ж. Ибадуллаева, Ю.А. Ким

Показана возможность определения pH среды по флуоресценции гидрофобного зонда $N-((4-(6\text{-phenyl-1,3,5-hexatrienyl)propyl)trimethylammonium } p\text{-toluenesulfonate}$ (ТМА-ДРН), включенного в полиэлектролитные микрокапсулы, а для исследования характеристики микрокапсулы и визуализации ее оболочки из полиэлектролитов на флуоресцентном микроскопе применен зонд амфифильной природы мероцианин 540 (M540). Полиэлектролитные микрокапсулы, толщина оболочки которых была приблизительно 400 нм (для капсул с числом слоев 6), получали методом поочередной адсорбции противоположно заряженных полиэлектролитов полистиролсульфоната (ПСС) и полиаллилामина (ПАА) на частицы CaCO_3 или биоминеральные ядра CaCO_3 /белок.

Ключевые слова: биосенсор, pH, полиэлектролитные микрокапсулы, флуоресцентные зонды.

Введение

Показатель pH – это важнейший параметр многих химических и биологических процессов, протекающих в природе и в живых организмах, в клиническом анализе, контроле качества продуктов и т.д., для измерения которого используются различные сенсорные устройства. Наряду с традиционными методами измерения pH среды с помощью химических индикаторов и амперометрических или потенциометрических устройств, в которых используется стеклянный электрод, для определенных задач разработаны и ведутся исследования по разработке новых устройств и методов определения этой величины. Так при анализе объектов окружающей среды применяются оптические волноводы, позволяющие локально детектировать сигнал с высоким разрешением, а сенсорные микропланшеты дают возможность одновременного скрининга большого числа образцов.

Для детектирования пространственного распределения pH в образце разработаны планарные сенсорные мембраны. Значительный исследовательский интерес сосредоточен на разработке химических или биологических датчиков с использованием функциональных полимеров [1] и, конкретно, методов, используемых для pH измерений [2]. Измерение уровней pH основаны на полимерных материалах [3] к которым относятся покрытые полимером волоконно-оптические датчики, устройства с

электродами, модифицированными рН-чувствительными полимерами, флуоресцентными индикаторами рН, потенциометрические датчики рН.

Поверхность с биоэлементом, которая взаимодействует с анализируемым объектом, формируются путем прямого включения индикатора в матрицу или предварительным включением его в микро- или наночастицы с последующим включением в матрицу [4-6].

При создании рН-сенсоров в качестве индикаторов, наиболее чаще используются феноловый красный, бромтимоловый синий (БТС), производные флуоресцеина, гидроксикумарины и др. [7, 8]. У большинства оптических датчиков узкий динамический диапазон измерения рН и сигнал зависит от ионной силы образца [9, 10]. Этот недостаток преодолен применением липофильного эфира флуоресцеина, несущие один отрицательный заряд, которые были встроены в незаряженный, проницаемый для протонов гидрогель [11]. В результате был получен оптический датчик рН с динамическим диапазоном рН от 4,5 до 8.

Оптические датчики рН, основанные на измерении фотолюминесценции обладают большими достоинствами применительно в биотехнологии и биомедицине [12]. Основная концепция оптических методов измерения рН опирается на тот факт, что падающий луч света проходит через световод к активному концу датчика, где он взаимодействует с химическим веществом индикатора, который изменяет интенсивность пучка обычно путем поглощения или флуоресценции [13]. Примеры оптического метода измерения рН в физиологических образцах описаны в работах [14, 15].

Большой интерес представляет капсулирование биологического материала, в том числе фотометрических и люминесцентных органических реагентов в полиэлектролитные микрокапсулы, которые были впервые получены [16, 17] путем удаления коллоидной частицы (ядра), покрытой полиэлектролитной оболочкой. Технология позволяла получать микрокапсулы определенной формы и размера, зависящих от используемых матриц-ядер, причем оболочка микрокапсул обеспечивала требуемые каталитические или аффинные свойства, стабильность, проницаемость, совместимость и регулирование высвобождения внутреннего материала капсулы.

Материалы и методы

В настоящей работе мы исследовали возможность измерения рН среды по флуоресценции гидрофобного зонда N-((4-(6-phenyl-1,3,5-hexatrienyl)propyl)trimethylammonium *p*-toluenesulfonate (ТМА-DPH), включенного в оболочки полиэлектролитных микрокапсул. Молекулы зонда ТМА-DPH при введении в среду с полиэлектролитными микрокапсулами из полистиролсульфоната (ПСС) и полалиламина (ПАА)

спонтанно включались в слои оболочек. При взаимодействии с интактными покоящимися клетками в водной суспензии молекулы зонда ТМА-DPH включаются в мембраны согласно закону распределения, т. е. количество включенного зонда пропорционально доступной поверхности мембраны [18]. Катионное производное дифенилгексатриена-ТМА-DPH используют в качестве флуоресцентного зонда для исследования полярной области мембран [19].

Рабочая концентрация флуоресцентного зонда ТМА-DPH (Molecular probes) составляла $2,0 \times 10^{-6}$ М. Флуоресцентные измерения проводились на спектрофлуориметре Perkin Elmer MPF-44В при комнатной температуре и постоянном перемешивании раствора. Длины волн возбуждения и флуоресценции 350 и 430 нм соответственно.

Мероцианин 540 (М540) нами был использован для исследования характеристики микрокапсулы и визуализации ее оболочки из полиэлектролитов на флуоресцентном микроскопе. Это гетероциклический хромофор с локальным отрицательным зарядом, интенсивность флуоресценции которого зависит от количества молекул, связавшихся с мембранами клеток, мембранного потенциала и ориентации молекул зонда относительно фосфолипидных молекул. В связи с этим его используют часто для тестирования упаковки фосфолипидных молекул во внешней листке мембраны. [20]. Спектральные свойства зонда зависят от свойств микроокружения: в гидрофобном микроокружении зонд существует в виде мономеров, полярное микроокружение вызывает ассоциацию молекул зонда, причем флуоресцируют только мономеры зонда [21]. При введении молекул зонда в среду измерения, содержащую полиэлектролитные микрокапсулы, появляется флуоресценция.

Визуализация микрокапсул с иммобилизованными молекулами красителя была выполнена на конфокальном лазерном микроскопе LSM 510 NLO (Carl Zeiss). В качестве источника возбуждения использовали лазеры Argon 2 (длина волны 477 нм) и HeNe 1 (длина волны 543 нм). Обработка изображений производилось с помощью программы LSM 510 и Lucida Analyse 5.

Полиэлектролитные микрокапсулы получали методом поочередной адсорбции противоположно заряженных полиэлектролитов полистиролсульфоната (ПСС) и полиаллиламина (ПАА) на частицы CaCO_3 или биоминеральные ядра CaCO_3 /белок. Полученные по стандартной методике [22] микрочастицы карбоната кальция имели сферическую форму и размер 3–6 мкм. После формирования определенного числа полиэлектролитных слоев минеральную составляющую ядер удаляли раствором этилендиаминтетраацетата (ЭДТА), pH=7,4.

Результаты и обсуждение

Включение флуоресцентных молекул в полиэлектролитные микрокапсулы можно производить непосредственно внесением раствора красителя в водную суспензию капсул или предварительно на стадии формирования оболочки. Другим способом является использование их конъюгатов с высокомолекулярными веществами (белками, полимерами) для формирования ядер путем совместной копреципитации с неорганическими компонентами и последующей процедурой формирования полиэлектролитной оболочки. Функционирование полиэлектролитной микрокапсулы в качестве сенсора возможно благодаря полупроницаемости ее мембраны: она проницаема для низкомолекулярных веществ и непроницаема для высокомолекулярных. Загрузка капсул флуоресцентными индикаторами, чувствительными к определенным ионам и молекулам, ведет к созданию хемосенсоров, а их комбинация с биологическими компонентами, например ферментами, - биосенсоров. Таким образом, на основе полиэлектролитных микрокапсул возможно конструировать биосенсоры для определения различных метаболитов.

Эксперименты по подбору флуоресцентного зонда показали возможность использования зондов амфифильной природы, к числу которых относится мероцианин 540. Зонд включается в полиэлектролитные микрокапсулы в результате не ковалентных взаимодействий: гидрофобных и электростатических, флуоресцирует в гидрофобном окружении и был использован для исследования характеристик полых полиэлектролитных микрокапсул ПСС и ПАА [23] на флуоресцентном микроскопе (рис. 1, а), а ТМА-ДРН для регистрации изменения рН в растворе с микрокапсулами, содержащими уреазу, при действии мочевины.

В воде М540 флуоресцирует очень слабо, а при включении в микрокапсулы интенсивность его резко возрастает. На рис. 1 представлена микрофотография микрокапсулы с числом слоев 6 и распределение интенсивности флуоресценции молекул зонда по сечению микрокапсулы на глубине 2 мк.

Оценка толщины оболочки микрокапсулы по окрашиванию зондом М540 дало величину приблизительно 400 нм для капсул с числом слоев 6. Как показали эксперименты, после введения М540 в водную среду с микрокапсулами интенсивность флуоресценции увеличивалась с течением времени и достигала некоторого равновесного состояния (рис. 2, б). С увеличением числа полиэлектролитных слоев в капсуле наблюдался рост интенсивности флуоресценции зонда.

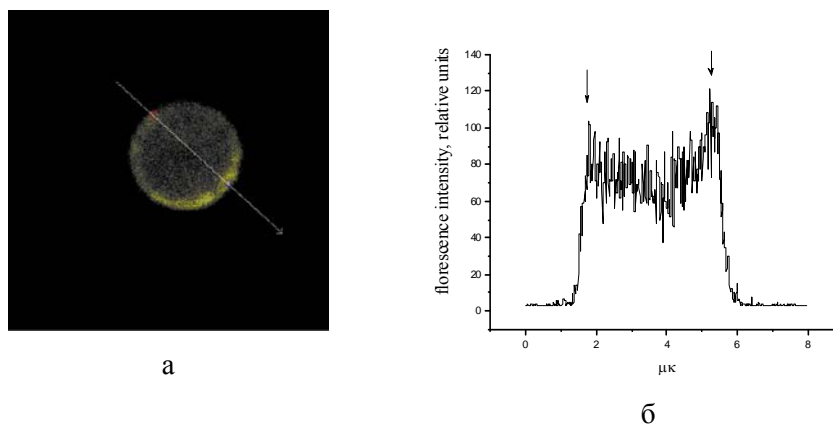


Рис. 1. а - Микрофотография микрокапсулы с числом слоев 6, меченых мероцианином 540, б - Распределение интенсивности флуоресценции молекул зонда по сечению микрокапсулы на глубине 2 мк

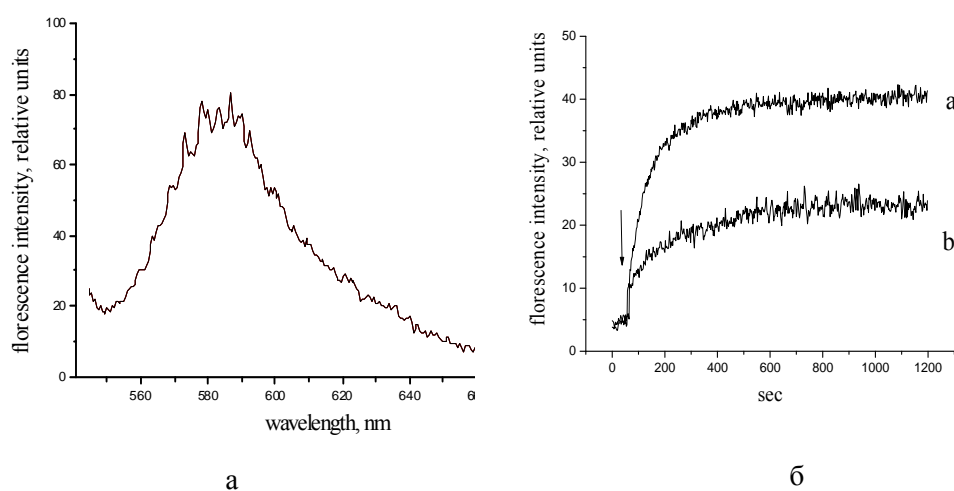


Рис. 2. а - Спектр флуоресценции мероцианина 540 (10^{-8} M) в полиэлектролитных микрокапсулах из ПСС и ПАА с числом слоев 9. Длина волны возбуждения 540 нм; б - Кинетика включения флуоресцентного зонда мероцианин 540 в полиэлектролитные микрокапсулы (а – микрокапсула с числом слоев 9, б – микрокапсула с числом слоев 6). Стрелкой указан момент введения зонда. Длина волны возбуждения 540 нм, флуоресценции - 580 нм

На экспериментальных кривых можно выделить два участка: быстрая стадия ($t < c$) и медленный этап взаимодействия, длящийся десятки и сотни секунд (рис. 2, б). Существование двух столь разных процессов обусловлено особенностями строения микрокапсул. Быстрая фаза, возможно, отражает процесс связывания флуоресцентной метки с одонитевыми комплементарно несвязанными участками полиэлектролитов, а медленная – процесс диффузии молекул зонда в глубь оболочки капсул, разрушения комплементарно связанных комплексов из

поликатионов и полианионов и связывание M540 преимущественно с расплетенными полиэлектролитными нитями [23].

По результатам флуоресцентных исследований и анализа микрофотографий мы предположили, что оболочки полиэлектролитной микрокапсулы состоят в основном из интерполиэлектролитных комплексов и имеют на своей поверхности участки молекул полиэлектролитов, несвязанные комплементарно с противоположно заряженными полиэлектролитными нитями. Увеличение интенсивности флуоресценции зонда с увеличением числа слоев в оболочке микрокапсулы связано с ростом числа мест связывания. Встраивание зонда в оболочку микрокапсул дает возможность для их изучения на флуоресцентном микроскопе (рис. 1). Связывание молекул зонда с микрокапсулами происходит с положительно заряженными некомпенсированными фрагментами ПАА на поверхности микрокапсул и с гидрофобными участками полиэлектролитных ее структур. Аналогичным образом, возможно, включаются в полиэлектролитные микрокапсулы заряженные гидрофобные красители.

Флуоресцентный гидрофобный зонд ТМА-DPH, включенный в полиэлектролитные микрокапсулы, был использован для регистрации изменения рН среды. В водной среде с полиэлектролитными микрокапсулами при рН ниже 5,0-5,1 введение зонда ТМА-DPH в используемой концентрации не приводило к его свечению, т.е. молекулы зонда не включались в полиэлектролитные комплексы. При изменении рН раствора выше указанных значений появлялась флуоресценция (рис. 3, а), интенсивность которого увеличивалась с ростом значений рН (рис. 3, б).

Эту особенность в поведении молекул зонда мы использовали для регистрации изменения рН среды в результате реакции мочевины с уреазой, инкапсулированной в полиэлектролитные микрокапсулы. На рис. 3 б представлена кинетика роста интенсивности флуоресценции зонда в водной среде с полиэлектролитными микрокапсулами, в которые инкапсулированы молекулы уреазы, после добавления мочевины различной концентрации. Молекулы уреазы вступают в реакцию с мочевиной, в результате которой происходит защелачивание среды инкубации. Последнее приводит, по-видимому, к встраиванию молекул зонда в гидрофобные области полиэлектролитных микрокапсул, в результате которой наблюдается увеличение интенсивности флуоресценции.

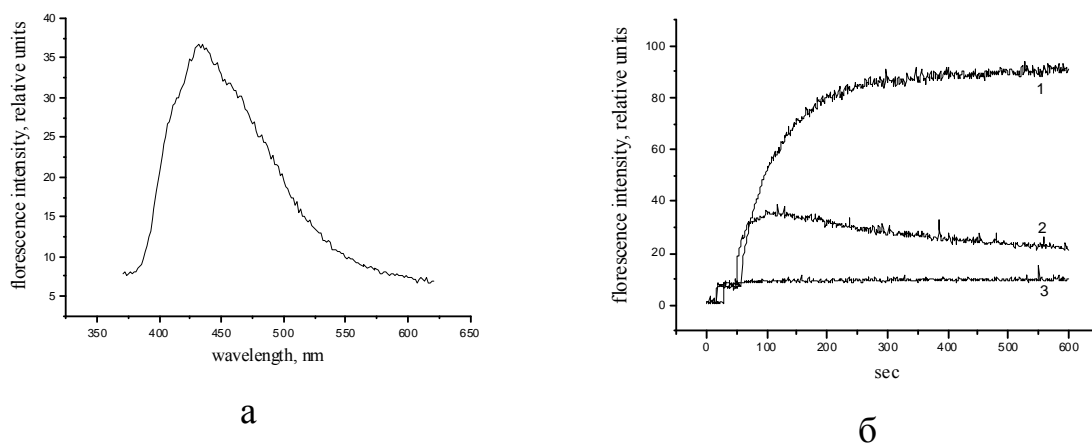


Рис. 3. а - Спектр флуоресценции ТМА-ДРН ($2,0 \times 10^{-6}$ М) в водном растворе полиэлектролитных микрокапсул ($5,0 \times 10^{-6}$, 7 слоев), содержащих уреазу. рН раствора 8,0, длина волны возбуждения 350 нм; б - Кинетика включения флуоресцентного зонда ТМА-ДРН в полиэлектролитные микрокапсулы с числом слоев 7 при рН 5,7 (3), рН 8,5 (1) и рН 7,2 (2). Стрелками указаны моменты введения микрокапсул и зонда соответственно. Длина волны возбуждения 350 нм, флуоресценции - 430 нм

Как видно из рис. 3, б, кинетические кривые роста интенсивности флуоресценции при взаимодействии с микрокапсулами состоят в основном из двух частей – быстрой фазы роста флуоресценции и медленной. На рис. 4, а представлена кривая зависимость начальной скорости роста интенсивности флуоресценции от концентрации мочевины.

Для определения зависимости интенсивности флуоресценции ТМА-ДРН в водном растворе с микрокапсулами от величины рН среды, значение рН раствора изменяли введением соответствующего количества NaOH из 0,01М и регистрировали флуоресценцию. Одновременно на рН-метре регистрировали значение рН раствора при тех же количествах NaOH. Затем амплитуду сигнала флуоресценции соотносили к кинетическим кривым на 30-35-й минуте.

Как следует из приведенного рис. 5, регистрация изменения рН раствора с помощью флуоресцентных зондов аналогична традиционному способу с помощью стеклянного электрода. Можно предположить, что такой способ может быть использован после усовершенствования метода, например, для определения рН с помощью одной сенсорной капсулы.

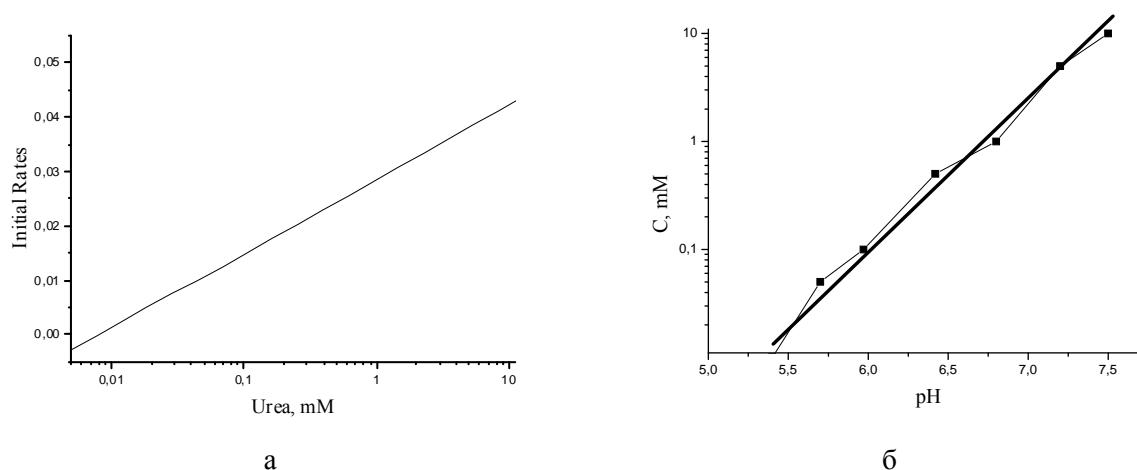


Рис. 4. а - Зависимость начальной скорости роста интенсивности флуоресценции от концентрации мочевины; **б -** Значения рН раствора через 30-35 мин после добавления мочевины различной концентрации в образец с полиэлектролитными микрокапсулами (ПСС-ПА, 7 слоев, $5,0 \times 10^6$) с включенными молекулами уреазы (зависимость построена по величине интенсивности флуоресценции зонда на 30-35-й мин после добавления мочевины) в полулогарифмическом масштабе

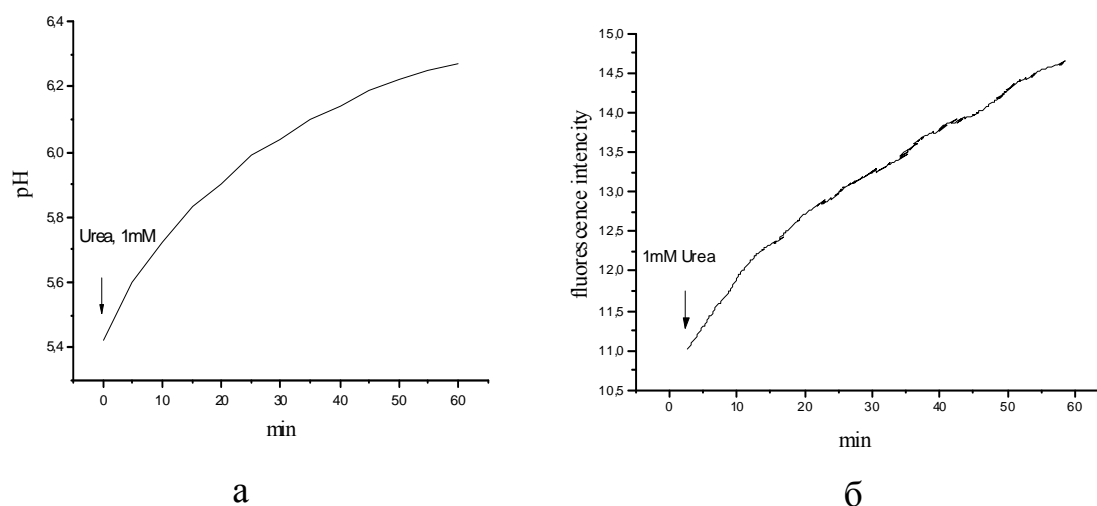


Рис. 5. а - Кривая роста рН в водном растворе полиэлектролитных капсул (ПСС-ПАА, 7 слоев, $5,0 \times 10^6$) с включенными молекулами уреазы после добавки мочевины 1 мМ. (Запись сделана на рН-метре); **б -** Кривая роста интенсивности флуоресценции зонда ТМА-ДРН (2,0 мкМ) в водном растворе полиэлектролитных капсул (ПСС-ПАА, 7 слоев, $5,0 \times 10^6$) с включенными молекулами уреазы после добавки мочевины 1мМ. (Запись сделана на флуориметре одновременно с записью на рН метре образца одного и того же приготовления)

Следует отметить, что метод обладал рядом недостатков - это необходимость соблюдения постоянства параметров, таких, как концентрация вводимого зонда, концентрация микрокапсул, активность инкапсулированного фермента. При изменении одного из параметров результаты могут быть другими и необходима новая калибровочная кривая. Нет полной уверенности, что изменение рН раствора соответствует полностью и линейно изменению интенсивности флуоресценции зонда, поскольку не известен сам механизм флуоресценции.

Тем не менее, биосенсоры на основе флуоресценции становятся важными инструментами современной биологии, позволяя осуществлять мониторинг биологических процессов в живых клетках в реальном времени. Внутриклеточные флуоресцентные зонды рН составляют одно из наиболее широко используемых семейств биосенсоров в микроскопии. Широкий ассортимент органических красителей с рН-зависимыми оптическими свойствами доступен для рН мониторинга с помощью флуоресцентной микроскопии или других методов, основанных на флуоресценции клеток [24-27].

Авторы работы [28] создали набор новых генетически кодированных биосенсоров на основе FRET (называемых флуоресцентными биосенсорами для рН или FluVpH), в которых используются флаavin мононуклеотид ((FMN)-связывающий флуоресцентный белок EcFbFP в качестве донорного домена. Для демонстрации применимости FluVpH *in vivo* были измерены рН с помощью ратиометрии в клетках *E. coli* во время кислотного стресса.

Возможность включения кислотно-основных индикаторов (лакмуса, бромтимолового синего (БТС) и метилового красного (МК)) в структуры «ядро–оболочка», а также в микрокапсулы, сформированные методом полиионной сборки на основе ядер карбоната кальция и гидроксиапатита исследована в работе [28]. Оценено влияние способа иммобилизации индикаторов (сорбция молекул на «ядрах», включение в полиэлектролитные (ПЭ) слои, инкапсулирование в полую ПЭ капсуле) и различных факторов на эффективность связывания. Полученные микрокапсулы были использованы для определения рН в буферных растворах, а также введены в состав зубной пасты в качестве зонда кислотности.

Работа выполнена при финансовой поддержке Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (проект AP05134201)

Список литературы

1. Adhikari B., Majumdar S. Polymers in sensor applications // Progress in Polymer Science (Oxford) 2005. V. 29. P. 699-766.

2. Yuqing M., Jianrong C., Keming F. New technology for the detection of pH // *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2005. V. 63. P. 1-9.
3. A. Review on State-of-the-art in Polymer Based pH Sensors / O. Korostynska, Kh. Khalil Arshak, E. Gill [et al.] // *Sensors*. 2007. V. 7. P. 3027-3042.
4. Hanson K.M., Behne M.J., Barry N.P. Two-photon fluorescence lifetime imaging of the skin stratum corneum pH gradient // *Biophys. J.* 2002. V. 83(3). P. 1682-1690.
5. Characterization of microtiterplates with integrated optical sensors for oxygen and pH, and their applications to enzyme activity screening, respirometry, and toxicological assays / S. Arain, G. T. John, C. Krause [et al.] // *Sensors and actuators b-chemical*. 2006. V. 113(2). P. 639–648.
6. Arain S., Ley B. H., Benz K. Online Monitoring of Oxygen and pH during Cell Cultivation in Multiwell Plates // *Tissue engineering. Part A*. 2009. V. 15(3). P. 728–729.
7. Optical pH sensor based on the absorption of antenna generated europium luminescence by bromothymolblue in a sol-gel membrane / A. Lobnik, N. Majcen, K. Niederreiter [et al.] // *Sensors and actuators b-chemical*. 2001. V. 74(1–3). P. 200–206.
8. Liu Z. H., Liu J. F., Chen T. L. Phenol red immobilized PVA membrane for an optical pH sensor with two determination ranges and long-term stability // *Sensors and actuators b-chemical*. 2005. V. 107(1). P. 311–316.
9. Fluorescent pH sensors with negligible sensitivity to ionic strength / B. M. Weidgans, C. Krause, I. Klimant [et al.] // *Analist*. 2004. V. 129(7). P. 645–650.
10. Lin J. Recent development and applications of optical and fiber-optic pH sensors // *Trends Anal. Chem.* 2000. V. 19. P. 541–552.
11. Wolfbeis O. S. Fiber-optic chemical sensors and biosensors // *Analytical chemistry*. 2002. V. 74. №. 12. P. 2663-2678.
12. Optical pH sensing using spectral analysis / M. Fritzsche, C. G. Barreiro, B. Hitzmann [et al.] // *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 2007. V. 128. P. 133-137.
13. Janata, J. Do optical sensors really measure pH? // *Analytical Chemistry*. 1987.V. 59. P. 1351-1356.
14. Temperature-dependent changes in energy metabolism, intracellular pH and blood oxygen tension in the Atlantic cod / F.J. Sartoris, C. Bock, I. Serendero [et al.] // *Journal of fish biology*. 2003. V. 62. №. 6. P. 1239-1253.
15. Characterization of microtiterplates with integrated optical sensors for oxygen and pH, and their applications to enzyme activity screening, respirometry, and toxicological assays / S. Arain, G.T. John, C. Krause [et al.] // *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2006. V. 113. №. 2. P. 639-648.

16. Layer-by-layer self assembly of polyelectrolites on colloidal particles / G. B. Sukhorukov, E. Donath, H. Lichtenfeld [et al.] // *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 1998. V. 137. P. 253-266.

17. Novel hollow polymer shells by colloid-templated assembly of polyelectrolytes / E. Donath, G.B. Sukhorukov, F. Caruso [et al.] // *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998. V. 37(16). P. 2202-2205.

18. A Fluorescent Hydrophobic Probe Used for Monitoring the Kinetics of Exocytosis Phenomena / Ch. Bronner, Y. Landry, P. Fonteneau [et al.] // *Biochemistry*. 1986. № 25. P. 2149-2154.

19. Physical properties and lipid composition of brain membranes from ethanol tolerant-dependent / R.A. Harris, D.M. Baxter, M.A. Mitchell [et al.] // *Mol. Pharmacol.* 1984. №. 25. P. 401-409.

20. Lagerberg J.W.M. Factors influencing binding and efficacy of merocyanine 540 and other photosensitizers // *Cell. Mol. Life Sci.* 1997. V. 53. P. 257-262.

21. Sikurova L., Cunderlikova B. pH dependence of merocyanine 540 absorption and fluorescence spectra // *Spectrochimica Acta Part.* 1997. № 53. P. 293-297.

22. Matrix polyelectrolyte microcapsules: New system for macromolecule encapsulation / D. V. Volodkin, A. I. Petrov, M. Prevot [et al.] // *Langmuir*. 2004. V. 20. P. 3398–3406.

23. Development of a Novel GFP-based Ratiometric Excitation and Emission pH Indicator for Intracellular Studies / R. Bizzarri, C. Arcangeli, D. Arosio [et al.] // *Biophysics Journal*. 2006. V. 90. P. 3300-3314.

24. Hai-Jui L., Herman P., Jakowicz J. R. Fluorescence lifetime-resolved pH imaging of living cells // *Cytometry Part A*. 2003. V. 52A. P. 77-89.

25. Fluorescence imaging method for in vivo pH monitoring during liposomes uptake in rat liver using a pH-sensitive fluorescent dye / S. Begu, S. Mordon, T. Desmettre [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. 2005. V. 10. P. 4008-4014.

26. Characterization of dualwavelength seminaphthofluorescein and seminaphthorhodafluor dyes for pH sensing underhigh hydrostatic pressures / M. Salerno, J. J. Ajimo, J. A. Dudley [et al.] // *Analytical Biochemistry*. 2007. V. 362. P. 258-267.

27. A novel FbFP-based biosensor toolbox for sensitive in vivo determination of intracellular pH / Ch. Rupprecht, M. Wingen, J. Potzkei [et al.] // *Journal of Biotechnology*. 2017. V. 258(20). P. 25-32.

28. Структуры ядро-оболочка и полиэлектролитные капсулы с иммобилизованными кислотно-основными индикаторами / Н. А. Бурмистрова, О. А. Колонтаева, Т. Ю. Русанова [и др.] // *Изв. Саратовского ун-та. Сер. Химия. Биология. Экология*. 2013. Т. 4. С. 1-8.

Ягольник Елена Андреевна, канд. биол. наук, доц., yea_88@mail.ru, Россия, Тула, Тульский государственный университет,

Фомкина Мария Григорьевна, канд. биол. наук, ведущ. науч сотр., mfomkina@mail.ru, Россия, Пушино, Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,

Замятина Елизавета Александровна, магистрант, sonyoru162@gmail.com, Россия, Пушино, Пушинский государственный естественно-научный институт,

Аппазов Нурбол Орынбасарулы, канд. хим. наук, проф., руководитель лаборатории, nurasar.82@mail.ru, Казахстан, Кызылорда, Кызылординский государственный университет им. Коркыт Ата,

Ибадуллаева Салтанат Жарылкасыновна, д-р биол. наук, проф., salt_i@mail.ru, Казахстан, Кызылорда, Кызылординский государственный университет им. Коркыт Ата,

Ким Юрий Александрович, д-р физ.-мат. наук, ведущ. науч сотр., проф., yuk01@rambler.ru, Россия, Пушино, Институт биофизики клетки РАН

POLYELECTROLYTIC MICROCAPSULES WITH ANTIMATED UREASIS: MEASURING THE pH OF THE MEDIUM HYDROPHOBIC FLUORESCENT PROBE

*E.A. Yagolnik, M.G. Fomkina, E.A. Zamyatina, N.O. Appazov,
S. Zh. Ibadullaeva, Yu.A. Kim*

The possibility of determining the pH of the medium by the fluorescence of a hydrophobic probe N-((4-(6-phenyl-1,3,5-hexatrienyl) propyl) trimethylammonium p-toluenesulfonate (TMA-DPH), included in polyelectrolyte microcapsules, and for studying the characteristics of microcapsules and visualizing its polyelectrolyte shell on a fluorescent microscope, using an amphiphilic nature probe merocyanin 540 (M540). Polyelectrolyte microcapsules with a shell thickness of approximately 400 nm (for capsules with 6 layers) were obtained by alternately adsorbing oppositely charged polyethylene polystyrene sulfonate (PSS) and polyallylamine (PAA) ktroliths for CaCO₃ particles or CaCO₃ / protein biomineral cores.

Key words: biosensor, pH, polyelectrolyte microcapsules, fluorescent probes

Yagolnik Elena Andreevna, candidate of biological sciences, associate professor, yea_88@mail.ru, Russia, Tula, Tula State University,

Fomkina Mariya Grigor'evna, candidate of biological sciences, Senior Researcher, mfomkina@mail.ru, Russia, Pushchino, Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of Russian Academy of Sciences,

Zamyatina Elizaveta Aleksandrovna, undergraduate, sonyoru162@gmail.com, Russia, Pushchino, Pushchino State Institute of Natural Sciences,

Appazov Nurbol Orynbasaruly, candidate of chemical sciences, professor, head of the laboratory, nurasar.82@mail.ru, Kyzylorda, Kazakhstan, Korkyt Ata Kyzylorda State University,

Ibadullaeva Saltanat Zharylkasynovna, doctor of biological sciences, professor, salt_i@mail.ru, Kyzylorda, Kazakhstan, Korkyt Ata Kyzylorda State University,

Kim Yuriy Aleksandrovich, doctor of physical and mathematical sciences, professor, yuk01@rambler.ru, Russia, Pushchino, Institute of Cell Biophysics of Russian Academy of Sciences

УДК 547.532 + 544.183

КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНОЙ СТАБИЛЬНОСТИ ИНТЕРМЕДИАТОВ РЕАКЦИИ ГИДРИДНЫХ АДДУКТОВ м-ДИНИТРОБЕНЗОЛА С КАТИОНОМ ФЕНИЛДИАЗОНИЯ

И.В. Блохин, Ю.М. Атрощенко, И.В. Шахкельдян,
Н.И. Блохина, М.Б. Никишина

Квантово-химические методом DFT/B3LYP/ aug-cc-pVDZ показали, что при атаке фенилдиазокатиона на изомерные гидридные σ -аддукты м-динитробензола наиболее устойчивый интермедиат образуется при присоединении электрофила к одной из нитрогрупп симметричного σ -аддукта, причем наиболее выгодным расположением фенилазогруппы является экваториальное положение относительно циклогексадиенового кольца. В случае реакции с более термодинамически устойчивым изомерным гидридным аддуктом присоединение диазокатиона выгоднее к реакционному центру, наиболее удаленному от sp^3 -гибридизованного атома углерода субстрата, что дает интермедиат с практически плоским циклогексадиеновым кольцом.

Ключевые слова: гидридный аддукт м-динитробензола, катион фенилдиазония, метод DFT.

Введение

Взаимодействие полинитроаренов с тетрагидридоборатом натрия, приводящее к образованию анионных σ -аддуктов, является одним из способов восстановительной активации электронодефицитных соединений [1]. Это дает возможность осуществления реакции даже с такими слабыми электрофильными агентами, как соли ароматических диазосоединений [2-4], что приводит к образованию азосоединений, которые нельзя получить классической реакцией азосочетания.

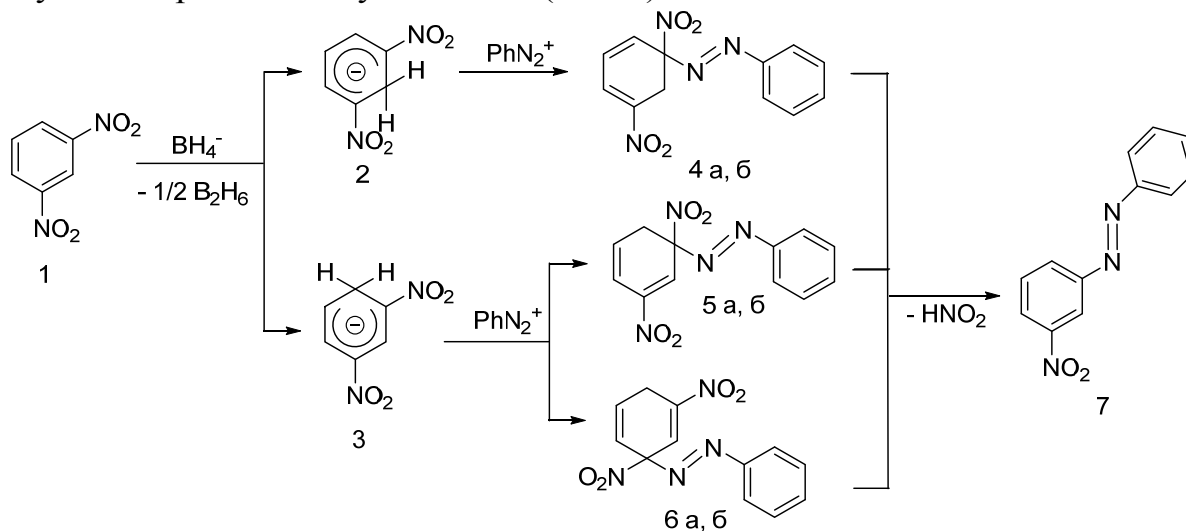
Целью данной работы является квантово-химическое моделирование методом DFT/B3LYP относительной устойчивости интермеидатов реакции гидридного аддукта м-динитробензола с фенилдиазокатионом. Использование данного DFT метода хорошо зарекомендовало себя при изучении геометрической структуры анионных σ -аддуктов на примере 9-нитроантрацена [5], а также основано на том, что вычисления методом DFT с использованием дважды валентно расщепленных базисов, дополненных диффузными и/или поляризационными функциями, хорошо коррелируется с геометрическими параметрами нитросоединений бензольного ряда [6].

Материалы и методы

Квантово-химическое моделирование электронной структуры молекул проводили в рамках приближения теории функционала плотности с использованием гибридного трехпараметрического обменного функционала Беке [7] с корреляционным функционалом Ли-Янга-Парра [8] (B3LYP) [9] и базисного набора aug-сс-pVDZ [10]. Проводили полную оптимизацию геометрии без ограничений по типу симметрии. Характер стационарных точек на поверхности потенциальной энергии контролировали расчетом гессиана. Отсутствие мнимых частот колебаний подтвердило стационарный характер полученных структур. Вычисления проводились средствами программного комплекса Firefly 8.0. [11]. Учет влияния растворителя воды - реализован в рамках метода PCM ($\epsilon = 78,36$) при 298,15K [12].

Обсуждение результатов

Авторами работы [3] было установлено, что взаимодействие 1,3-динитробензола **1** с тетрагидридоборат ионом приводит к образованию двух изомерных σ -аддуктов **2** и **3** (схема):



В работе [13] показано, что атака тетрагидридоборат-иона по атому углерода C2 м-динитробензола **1**, имеющему наибольший положительный заряд, дает менее устойчивый σ -аддукт **2** и подчиняется кинетическому контролю, а присоединение гидрид-иона в положение C4 ароматического кольца идет в условиях термодинамического контроля и дает более устойчивый продукт **3**. Предпочтительное протекание реакции по более положительно заряженному атому углерода C2 подтверждается данными работы [3], где установлено, что интенсивность ЯМР сигналов симметричного аддукта **2** в 1,5 раза больше.

Далее следует предположить, что реакция с катионом фенилдиазония может развиваться по двум направлениям (схема).

Присоединение электрофила к симметричному σ -аддукту **2** приводит к образованию единственного интермедиата **4** – производному 1,5-динитроциклогексадиена-1,3, в котором фенилазогруппа может находиться как в экваториальном (**а**), так и аксиальном (**б**) положении. Присоединение фенилдиазоний катиона к анионному σ -аддукту **3** может идти двумя путями, следствием чего становится возможным образование двух разных промежуточных соединений сопряженного диена **5** и производному циклогексадиена-1,4 интермедиату **6**. Гипотеза о возможном механизме протекания реакции гидридного σ -аддукта м-динитробензола **1** с катином фенилдиазония основана на данных работ [14, 15], в которых были выделены подобные интермедиаты, производные 9,10-дигидроантрацена при взаимодействии σ -аддукта 9-нитроантрацена с солями ароматических диазосоединений. Отщепление азотистой кислоты от интермедиатов **4-6** приводит к единственному продукту реакции 3-нитроазобензолу **7**.

Мы провели геометрическую оптимизацию и расчет полных энергий всех конформеров соединений **4-6** с учетом экваториального (**а**) и аксиального (**б**) положения фенилазогруппы в газовой фазе и воде методом DFT/B3LYP. Полная энергия изучаемых интермедиатов представлена в таблице.

Полные и относительные полные энергии интермедиатов реакции гидридного аддукта м-динитробензола с фенилдиазокатионом, рассчитанные методом DFT/B3LYP в газовой фазе и воде

Соединение	Газовая фаза		Вода	
	Полная энергия, Хартри	Относительная полная энергия*, кДж/моль	Полная энергия, Хартри	Относительная полная энергия*, кДж/моль
4а	-983,0652049	0	-983,0824244	0
4б	-983,0639224	3,37	-983,0809496	3,87
5а	-983,0612640	14,13	-983,0779835	15,13
5б	-983,0601520	17,05	-983,0754910	21,68
6а	-983,0616028	13,24	-983,0784929	13,79
6б	-983,0606542	15,73	-983,0782578	14,41

**Энергия наиболее устойчивого соединения принята за ноль.*

Как видно из данных таблицы, наиболее устойчивым интермедиатом изучаемой реакции в газовой фазе и воде является соединение **4**, причем более стабильным оказался конформер с экваториальным расположением фенилазогруппы **4а**. Конформер **4б** с аксиальным расположением фенилазогруппы на 3,4-3,9 кДж/моль оказалась менее устойчивым. Вероятно, здесь играют роль стерические затруднения, возникающие при таком расположении объемного заместителя. Как видно из рис. 1, циклогексадиеновое кольцо обоих

конформеров имеет неплоское строение. Эндоциклические углы при sp^3 -гибридизованных атомах углерода составляют от 111,3 до 115,1 градусов. Таким образом, можно сделать вывод, что при реакции симметричного гидридного σ -аддукта **2** с катионом фенилдиазония наиболее стабильным интермедиатом является конформер соединения **4** с экваториальным расположением фенилазогруппы.

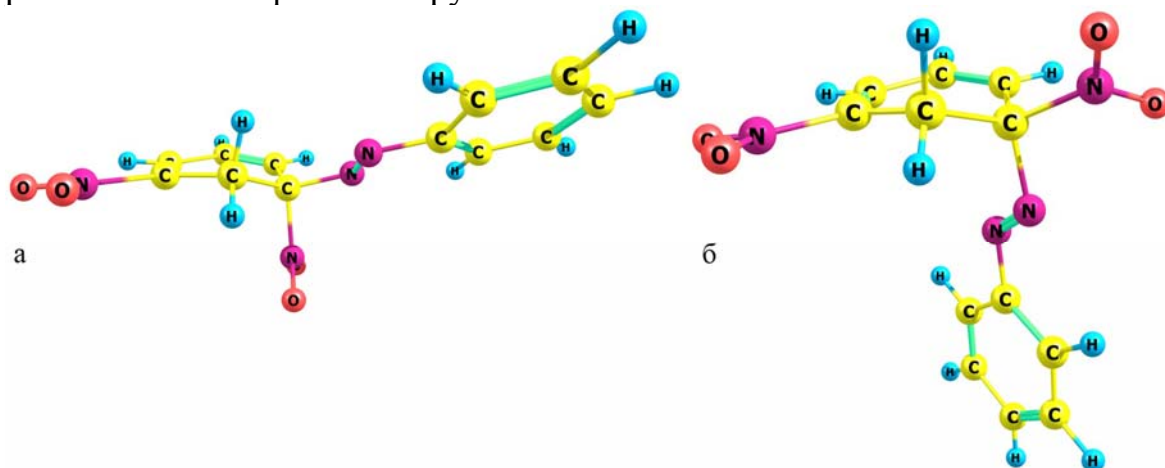


Рис. 1. Геометрические структуры конформеров интермедиата **4, рассчитанные методом DFT/B3LYP в воде: а – фенилазогруппа в экваториальном положении; б – фенилазогруппа в аксиальном положении**

Атака фенилдиазокатиона на более термодинамически стабильный анионный гидридный σ -аддукт **3** может идти по двум реакционным центрам, в результате чего возможно образование промежуточных соединений **5** и **6**. Как стало ясно по результатам геометрической оптимизации, интермедиат **5** сохраняет непланарное строение циклогексадиенового кольца с сопряженными π -связями, так же как и в случае соединения **4** (рис. 2). Эндоциклические углы при тетраэдрических атомах углерода равны от 112,3 до 113,8 градусов. Аналогично соединению **4**, наиболее стабильным конформером интермедиата **5** как в газовой фазе, так и в воде является структура с экваториальным расположением фенилазогруппы (**5a**) (таблица). Этот факт не согласуется с данными работы [16], где проводились аналогичные расчеты в ряду гидридного σ -аддукта 5,7-динитро-8-гидроксихинолина и наиболее стабильной структурой при атаке электрофила в положение C5 оказалось производное 5,6-дигидрохинолина, содержащее фенилазогруппу в аксиальном положении.

При анализе данных, полученных в результате геометрической оптимизации интермедиата **6**, неожиданно оказалось, что циклогексадиеновое кольцо имеет практически плоское строение, причем и нитрогруппа и фенилазогруппа при sp^3 -гибридизованном атоме углерода не имеют ярко выраженного экваториального или аксиального положения,

находясь либо над плоскостью цикла, либо под плоскостью цикла, вследствие чего данные структуры **6a** и **6b**, на наш взгляд, следует рассматривать не как конформеры, а как энантиомеры по отношению друг к другу (рис. 3).

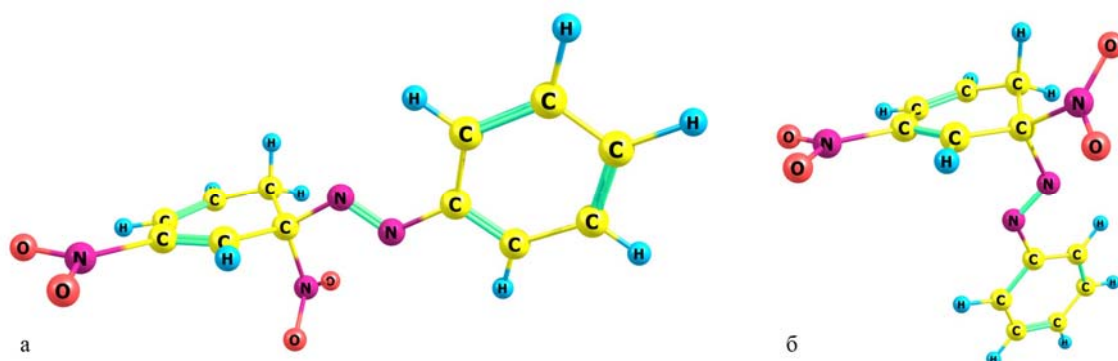


Рис. 2. Геометрические структуры конформеров интермедиата 5, рассчитанные методом DFT/B3LYP в воде: а – фенилазогруппа в экваториальном положении, б – фенилазогруппа в аксиальном положении

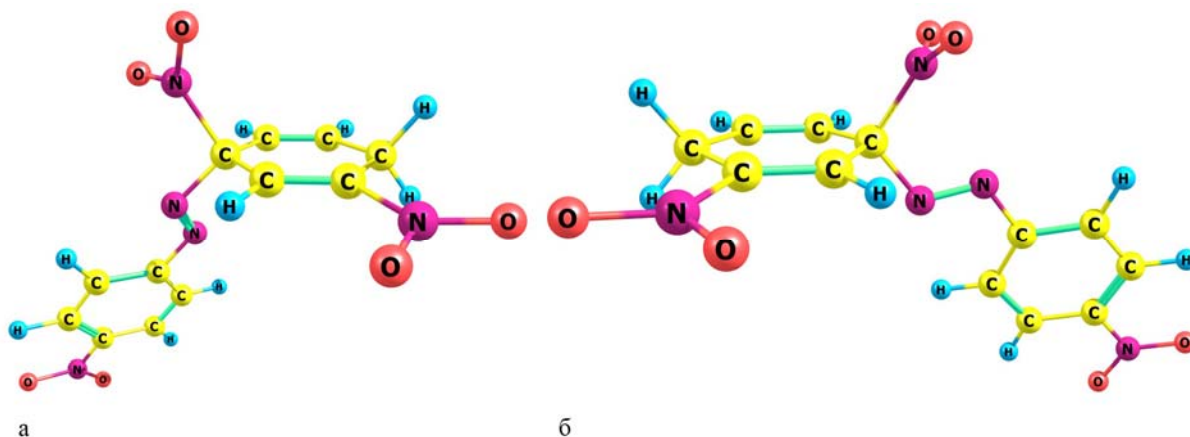


Рис. 3. Геометрические структуры энантиомеров соединения 6, рассчитанные методом DFT/B3LYP в воде

При расчетах на уровне DFT/B3LYP/aug-cc-pVDZ любопытным является тот факт, что оба энантиомера **6a** и **6b** оказались несколько более устойчивыми, чем конформеры **5a** и **5b**, несмотря на отсутствие сопряжения в циклогесадиеновом кольце (таблица). Данное утверждение можно либо опровергнуть, либо подтвердить, проведя квантово-химические вычисления с использованием дважды валентно расщепленных базисов. Кроме того, важнейшую роль здесь может играть электронное и пространственное строение исходного субстрата σ -аддукта **3**, что также предполагает дополнительное исследование.

Выводы

Таким образом, проведенные квантово-химические исследования показывают, что при атаке фенилдиазокатиона на смесь изомерных гидридных σ -аддуктов м-динитробензола наиболее устойчивый интермедиат образуется при присоединении электрофила к одной из нитрогрупп симметричного σ -аддукта, причем наиболее выгодным расположением фенилазогруппы является экваториальное положение относительно циклогексадиенового кольца. В случае реакции с наиболее термодинамически устойчивым изомерным гидридным аддуктом присоединение диазокатиона выгоднее к реакционному центру, наиболее удаленному от sp^3 -гибризованного атома углерода субстрата, что дает интермедиат с практически плоским циклогексадиеновым кольцом.

Список литературы

1. О взаимодействии 1,3,5-тринитробензола с тетрагидридоборатом натрия / Ю. М. Атрощенко, С. Н. Насонов, С. С. Гитис [и др.] // Журнал органической химии. 1994. Т. 30. № 4. С. 632-633.
2. Реакции ароматических нитросоединений. LXXIII. Взаимодействие гидридных σ -комплексов производных м-динитробензола с солями ароматических диазосоединений / Ю.М. Атрощенко, Н.И. Блохина, И.В. Шахкельдян [и др.] // Журнал органической химии. 2000. Т. 36. № 5. С. 712-719.
3. Реакции ароматических нитросоединений. LXXII. Анионные σ -комплексы нитроаренов в реакции азосочетания / Н.И. Блохина, Ю.М. Атрощенко, С.С. Гитис [и др.] // Журнал органической химии. 1998. Т. 34. № 4. С. 533-535.
4. Реакции ароматических нитросоединений. LXXIV. Азосочетание анионных σ -аддуктов нитроаренов с ароматическими диазосоединениями. Влияние условий проведения реакции на выход нитроазобензолов / Н. И. Блохина, И. В. Шахкельдян, Ю. М. Атрощенко [и др.] // Журнал органической химии. 2001. Т. 37. № 3. С. 426-428.
5. Молекулярная и электронная структура анионного σ -аддукта Мейзенгеймера 9-нитроантрацена по данным расчетов методом DFT/B3LYP / И. В. Блохин, М. Б. Никишина, Ю. М. Атрощенко [и др.] // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2018. № 1. С. 29-36.
6. Omelchenko I. V., Shishkin O. V. Basis set effects on the structure of isomeric nitroanilines: the role of basis set expansion, additional diffuse and polarization functions within the frame of DFT and MP2 approaches // Functional materials. 2017. V. 24. № 2. P. 270-277.

7. Becke A. D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange // J. Chem. Phys. 1993. V. 98. № 7. P. 5648-5652.
8. Lee C., Yang W., Parr R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density // Physical review B. 1988. Vol. 37. № 2. P. 785.
9. Ab initio calculation of vibrational absorption and circular dichroism spectra using density functional force fields / P.J. Stephens, F.J. Devlin, C.F. Chabalowski [et al.] // The Journal of Physical Chemistry. 1994. Vol. 98. № 45. P. 11623-11627.
10. Dunning Jr T.H. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen // The Journal of chemical physics. 1989. Vol. 90. № 2. P. 1007-1023.
11. Granovsky A. A. Firefly version 8.0. 2016. URL: <http://classic.chem.msu.su/gran/firefly/index.html>.
12. Tomasi J., Mennucci B., Cammi R. Quantum mechanical continuum solvation models // Chemical reviews. 2005. V. 105. № 8. P. 2999-3094.
13. Квантово-химическое изучение механизма реакции метадинитробензола с тетрагидридоборат-ионом. И. В. Блохин, М. Б. Никишина, Ю. М. Атрощенко [и др.] // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2018. № 1. С. 10-18.
14. Реакции ароматических нитросоединений. LXX. Образование 10-алкокси-9-нитро-9-фенилазо-9,10-дигидроантраценов и фенилгидразонов 9,10-антрахинона в реакции анионных σ -комплексов 9-нитроантрацена с ароматическими диазосоединениями / И. В. Блохин, Ю. М. Атрощенко, С. С. Гитис [и др.] // Журнал органической химии. 1996. Т. 34. № 10. С. 1531-1536.
15. Реакция тетрафторборатов нитрофенилдиазония с анионным σ -комплексом 9-нитроантрацена / И. В. Блохин, Ю. М. Атрощенко, А. Я. Каминский [и др.] // Журнал органической химии. 1995. Т. 32. № 4. С. 637-638.
16. К вопросу об относительной устойчивости интермедиатов реакции гидридного аддукта 5,7-динитро-8-гидроксихинолина с тетрафторборатом фенилдиазония / И. В. Блохин, И. И. Устинов, Ю. М. Атрощенко [и др.] // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2017. № 4. С. 11-16.

Блохин Игорь Васильевич, канд. хим. наук, доц., blokhiniv@mail.ru, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого,

Атрощенко Юрий Михайлович, д-р хим. наук, проф., зав. кафедрой, reaktiv@tspu.tula.ru, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого,

Шахельдян Ирина Владимировна, д-р хим. наук, проф., reaktiv@tspu.tula.ru, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого,

Блохина Наталья Ивановна, канд. хим. наук, учитель химии, blokhiniv@mail.ru, Россия, Тула, Лицей при Тульском государственном педагогическом университете им. Л.Н. Толстого,

Никишина Мария Борисовна, канд. хим. наук, доц., mama-67@mail.ru, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого

*QUANTUM-CHEMICAL MODELING OF THE RELATIVE STABILITY OF INTERMEDIATES OF THE REACTIONS OF HYDRIDE ADDUCTS OF *m*-DINITROBENZENE WITH PHENYLDIAZONIUM CATION*

*I.V. Blokhin, Yu.M. Atroshhenko, I.V. Shaxkel'dyan,
N.I. Blokhina, M.B. Nikishina*

*Quantum chemical method DFT/B3LYP/aug-cc-pVDZ shown that the attack phenyldiazo cation to isomeric hydride σ -adducts of *m*-dinitrobenzene most stable intermediate is formed by joining electrophile to one of the nitro groups symmetrical adduct being the most advantageous location phenylazo group is equatorial position relative cyclohexadiene ring. In the case of a reaction with a more thermodynamically stable isomeric hydride σ -adduct, attachment of the diazo cation is more advantageous to the reaction center furthest from the sp^3 hybridized carbon atom of the substrate, which gives an intermediate with a substantially flat cyclohexadiene ring.*

*Key words: hydride adduct of *m*-dinitrobenzene, phenyldiazonium cation, DFT method*

Blokhin Igor' Vasil'evich, candidate of chemical sciences, docent, blokhiniv@mail.ru, Russia, Tula, Tolstoy Tula State Pedagogical University,

Atroshchenko Yuriy Mikhaylovich, doctor of chemical sciences, professor, manager of katedra, reaktiv@tspu.tula.ru, Russia, Tula, Tolstoy Tula State Pedagogical University,

Shakhkel'dyan Irina Vladimirovna, doctor of chemical sciences, professor, reaktiv@tspu.tula.ru, Russia, Tula, Tolstoy Tula State Pedagogical University,

Blokhina Natal'ya Ivanovna, candidate of chemical sciences, chemistry teacher, blokhiniv@mail.ru, Russia, Tula, Lyceum at the Tolstoy Tula State Pedagogical,

Nikishina Mariya Borisovna, candidate of chemical sciences, docent, mama-67@mail.ru, Russia, Tula, Tolstoy Tula State Pedagogical University

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 581.1

**ФОРМИРОВАНИЕ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ В ПРИСУТСТВИИ
СУЛЬФАТА ЦИНКА В СРЕДЕ**

В.В. Мазов, В.В. Иванищев

*Представлены результаты исследования по влиянию различных концентраций сульфата цинка на прорастание семян пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на раннем этапе онтогенеза. Показано положительное влияние присутствия соли в концентрации 0,1 мМ на такие показатели, как длина побега, сырая и сухая масса побегов и корней. Отмечено полное ингибирование формирования корневой системы при концентрации 10 мМ сульфата цинка в среде. Показано незначительное влияние присутствия соли в среде на величину относительного содержания воды в проростках пшеницы. Полученные результаты представляют интерес для уточнения границы концентраций соли, при которой процессы стимуляции меняются на негативные для формирования проростков пшеницы.*

*Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., проростки пшеницы, сульфат цинка, длина побегов, сырая и сухая масса, относительное содержание воды.*

Введение

Цинк относят к группе тяжелых металлов, которые в незначительных количествах являются абсолютно необходимыми для обеспечения ряда физиологических и биохимических процессов и реакций [1, 2]. Например, считается, что в растениях этот металл влияет на объем поглощаемой воды и ее транспорт [3], уменьшает негативные эффекты коротких периодов теплового воздействия [4] и солевого стресса [5]. Он также участвует в синтезе нуклеиновых кислот, метаболизме углеводов и липидов, а также оказывает влияние на функционирование ДНК и РНК, образуя с ними комплексы [6]. Кроме того, цинк необходим для синтеза триптофана [7], который является предшественником индолилуксусной кислоты (ауксина), важнейшего ростового гормона растений [8].

Отмечена роль цинка для обеспечения молекулярных процессов. Так, сообщалось о его участии в работе сигнальной системы клетки с участием митоген-активируемых протеинкиназ [9]. Роль цинка в поддержании целостности мембраны может включать структурную ориентацию макромолекул и поддержание ионных транспортных систем, поскольку он взаимодействует с фосфолипидами и сульфидрильными группами мембранных белков. Важная роль этого металла состоит в контроле генерации и детоксикации свободных радикалов кислорода, которые могут разрушать мембранные липиды и белки, благодаря чему происходит поддержание функциональной и структурной целостности мембран [7]. В то же время существуют доказательства того, что цинк вовлечен в окислительную стресс-индуцируемую экспрессию генов,

кодирующих антиоксидантные защитные ферменты, такие, как аскорбатпероксидаза и глутатионредуктаза, удаляющие избыточные количества пероксида водорода [10].

Наиболее известное значение цинка состоит в том, что его ионы входят в состав простетических групп ряда внутриклеточных ферментов, таких как, дегидрогеназы, альдолазы, изомеразы, трансфосфорилазы, РНК- и ДНК-полимеразы [11], в том числе, связанные с процессами поддержания кислотности среды, синтеза белков и выработки энергии.

При этом высокие концентрации цинка в среде, напротив, вызывают ряд негативных процессов [2], несмотря на то, что на внутриклеточном уровне он может переводиться в недоступную форму путем образования комплексов с органическими лигандами или фосфором [7].

С другой стороны, изучение широкого спектра концентраций тяжелых металлов представляют интерес для развития одного из новых направлений в науке, которое обозначают термином гормезис и которое занимается пристальным изучением особенного действия низких и высоких доз фактора (здесь – содержания вещества в среде) на живые системы [12].

Поэтому цель работы состояла в изучении влияния широкого спектра доз цинка (в виде соли сульфата) на процесс формирования проростков пшеницы на ранней стадии онтогенеза.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали пшеницу яровую (*Triticum aestivum* L.). Наблюдения проводили за формированием проростков. Семена промывали в растворе перманганата калия, затем проточной водой. Растения выращивали в виде водной культуры, используя дистиллированную воду в контрольном варианте и с добавлением соли металла – $ZnSO_4$ (10^{-6} ; 10^{-4} ; 10^{-2} М) в опытных пробах.

Для получения проростков по 20 семян помещали в сосуды объемом 0,2 л, наливали воду или раствор соли в объеме 0,05 л и проращивали при температуре 20-22 °С при естественном освещении. В ходе формирования растений растворы меняли 2 раза.

На четвертые сутки определяли всхожесть семян. Для оценки токсического влияния ионов на 10 сутки после начала инкубации измеряли длину побега, а также их сырую и сухую массу.

Содержание воды рассчитывали, как описано ранее [13].

Эксперименты проведены в трех биологических повторностях. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Excel. На рисунках приведены средние величины. Уровень значимости результатов соответствует $P=0,05$.

Результаты и их обсуждение

Изучение влияния ионов Zn^{2+} на всхожесть семян пшеницы показало, что при самой низкой концентрации сульфата цинка (10^{-6} М) она составляла примерно такую же величину, как в контрольном варианте и была равной 95 %. В присутствии наиболее высокой концентрации сульфата цинка (10^{-2} М) всхожесть составляла 91,7 %. При этом максимальное количество проросших семян наблюдали при средней концентрации соли (10^{-4} М): при таких условиях всхожесть составила 100 %.

Близкие результаты были получены ранее и для семян горох посевного (*Pisum sativum* L.) сорта «Фараон» [14] в присутствии в среде сульфата цинка. Увеличение концентрации сульфата цинка в среде приводило к незначительному снижению прорастания семян (97 %), а при наиболее высокой концентрации соли (10 мМ) всхожесть составляла 90 %. Аналогичные результаты зафиксированы в присутствии в среде сульфата или хлорида цинка для многих других растений, причем максимальная степень ингибирования составляла 62% (0,17 мМ сульфата цинка) [2]. При этом пограничная концентрация ионов цинка находится в пределах 0,2-2 мМ, в присутствии которой происходило снижение всхожести семян разных растений.

Изучение влияние возрастающих концентраций сульфата цинка на формирование побегов пшеницы показало увеличение длины побегов на 8 и 23 % против контроля при минимальной и средней концентрациях, соответственно (рис. 1).

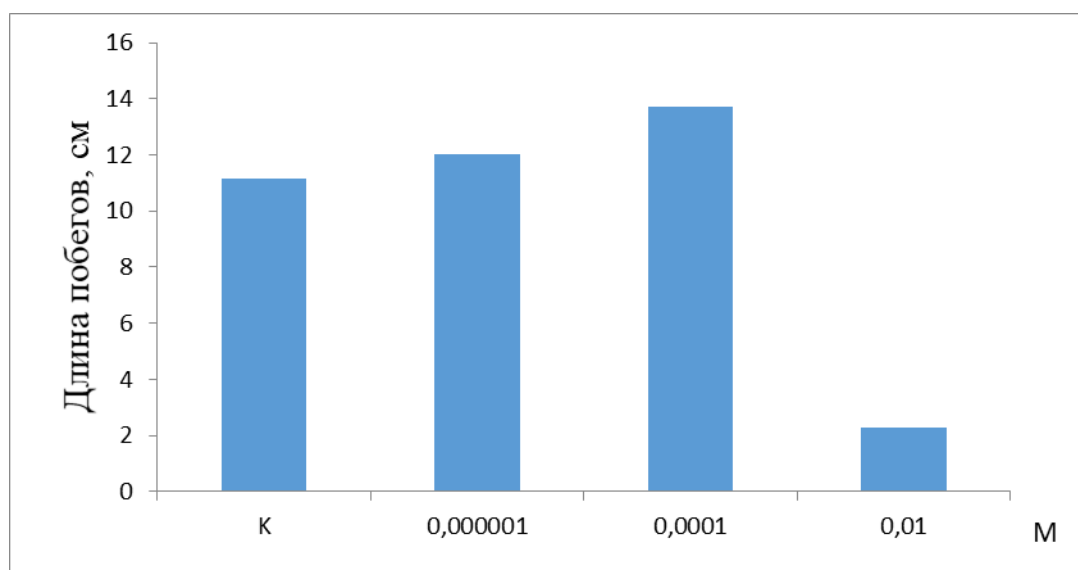


Рис. 1. Влияние разных концентраций сульфата цинка в среде на длину побегов пшеницы (К – контроль)

Значительное снижение этого показателя наблюдали при максимальной концентрации соли (10^{-2} М), при которой степень ингибирования составила примерно 5 раз. В качестве возможного механизма негативного влияния многие авторы считают, что цинк нарушает деление и растяжение клеток, за счет чего происходит ингибирующее влияние на ростовые показатели. Кроме того, при больших концентрациях этого металла в растениях наблюдаются нарушения в водном обмене, минеральном питании и фотосинтезе растений [1].

Сравнение с результатами исследований других авторов показало, что концентрации 10^{-4} - 10^{-5} М часто оказывали стимулирующие эффект, а более высокие – ингибирующий [1, 2, 14].

Исследование влияние сульфата цинка на коэффициент вариации (Сv) длины побега формирующихся растений пшеницы показало, что при увеличении концентрации соли от 10^{-6} до 10^{-4} М происходило заметное его снижение. Но при концентрации соли (10^{-2} М) наблюдали существенное увеличение коэффициента вариации, который все же был ниже, чем для контроля. Снижение коэффициента вариации можно объяснить положительным влиянием этих концентраций ионов цинка на формирование проростков пшеницы, что может быть связано с повышением сбалансированности и эффективности путей метаболизма, обеспечивающих этот процесс через оптимизацию активности ферментов, стимулируемых ионами цинка, в том числе ключевых для фотосинтеза ферментов: карбоангидразы и рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилазы-оксигеназы [7].

Для высшей в нашем эксперименте концентрации сульфата цинка (10^{-2} М), напротив, наблюдали повышение коэффициента вариации для длины побегов, что может быть связано с негативным действием избыточных количеств этого металла для процессов, важных для формирования побегов. Это нашло свое отражение, в первую очередь, в пятикратном снижении длины побегов пшеницы (рис. 1).

Определение сырой биомассы проростков показало, что в присутствии в среде возрастающих концентраций сульфата цинка (до 10^{-4} М) в среде, стимулирующий эффект был более заметным для побегов, чем для корней (рис. 2).

Для побегов он составил – 18 % при концентрации 10^{-6} М и 49 % при концентрации 10^{-4} М, по сравнению с контролем. Для корней получились следующие результаты: 10 % при концентрации 10^{-6} М и 31 % при концентрации 10^{-4} М. При этом существенное снижение сырой массы побегов происходило при наиболее высокой концентрации соли (10^{-2} М) в сравнении с контролем. Оно составило – 62 %. В то же время корневая система в этих условиях вообще не сформировалась.

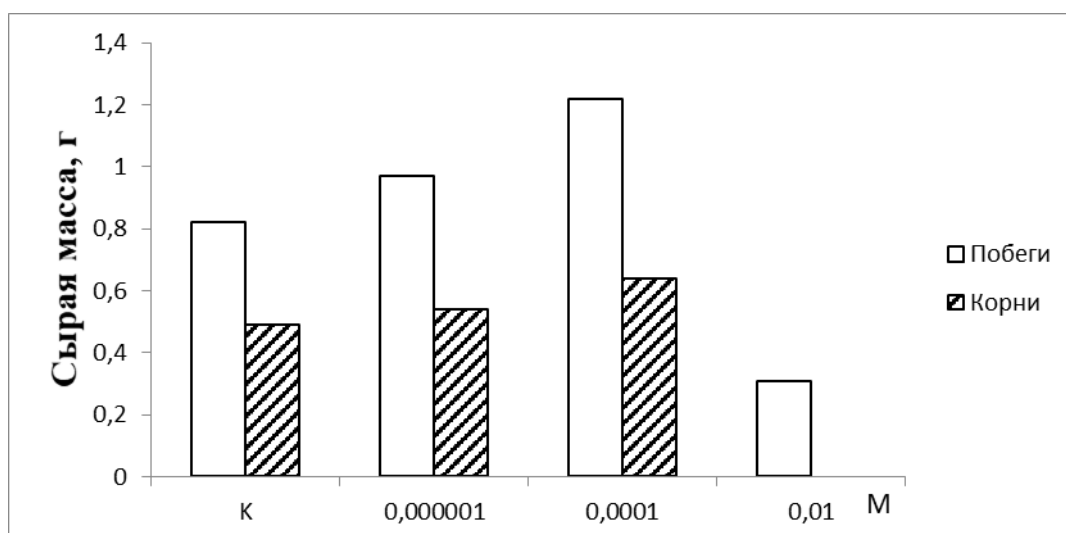


Рис. 2. Сырая масса побегов и корней пшеницы в зависимости от концентрации сульфата цинка в среде (К – контроль)

В результате определения сухой биомассы проростков было выяснено, что в присутствии возрастающих концентраций сульфата цинка (до 10^{-4} М) в среде стимулирующий эффект был более заметным для корней, чем для побегов (рис. 3).

Для побегов получились следующие результаты: стимуляция – 14 % при концентрации 10^{-6} М и 114 % - при концентрации 10^{-4} М. При этом существенное снижение сухой массы побегов происходило при наиболее высокой концентрации соли (10^{-2} М) в сравнении с контролем. Ингибирующий эффект при максимальной концентрации сульфата цинка в среде составил 43 %.

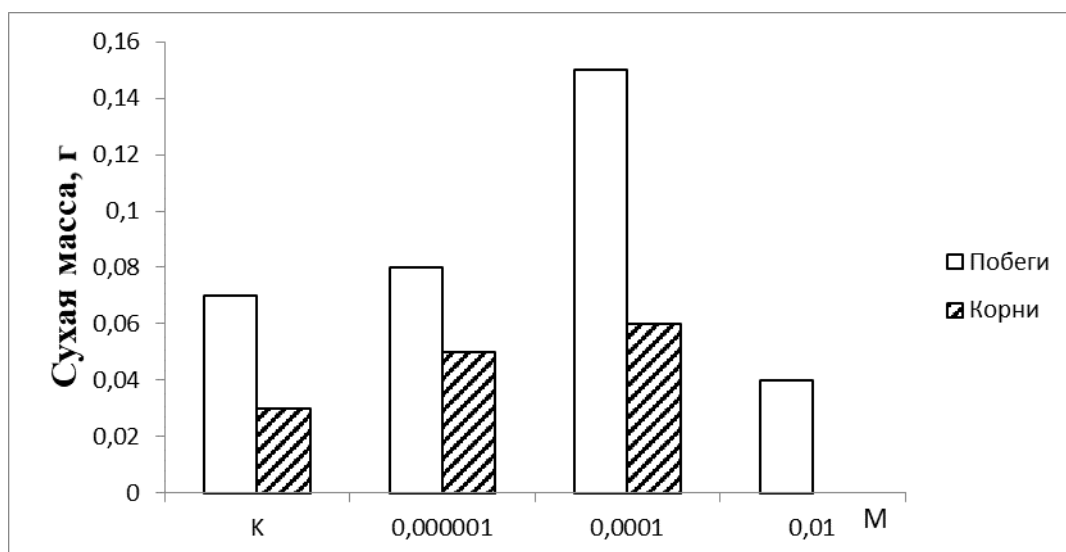


Рис. 3. Сухая масса побегов и корней пшеницы в зависимости от концентрации металла в среде (К – контроль)

Для корней стимулирующий эффект составил – 67 % при концентрации 10^{-6} М и 100 % - при концентрации 10^{-4} М, по сравнению с контролем. При максимальной концентрации соли в среде, как было уже отмечено, корневая система вообще не сформировалась.

Для большинства видов растений, изученных другими авторами, установлено, что стимулирующие концентрации ионов цинка в отношении данного показателя ограничены пределами 0,005-0,05 мМ. Ингибирующее влияние наблюдалось при более высоких концентрациях [1, 2, 14].

Сравнение величин сырой и сухой массы побегов и корней говорят о том, что присутствие сульфата цинка в среде влияло на содержание воды в органах растений. Поэтому далее определяли ее количество в побегах и корнях пшеницы.

Исследование показало, что при минимальной концентрации соли в среде (10^{-6} М) в побегах пшеницы происходило незначительное (и недостоверно отличающееся) повышение содержания воды в сравнении с контролем с некоторым снижением при более высоких концентрациях соли в среде (рис. 4).

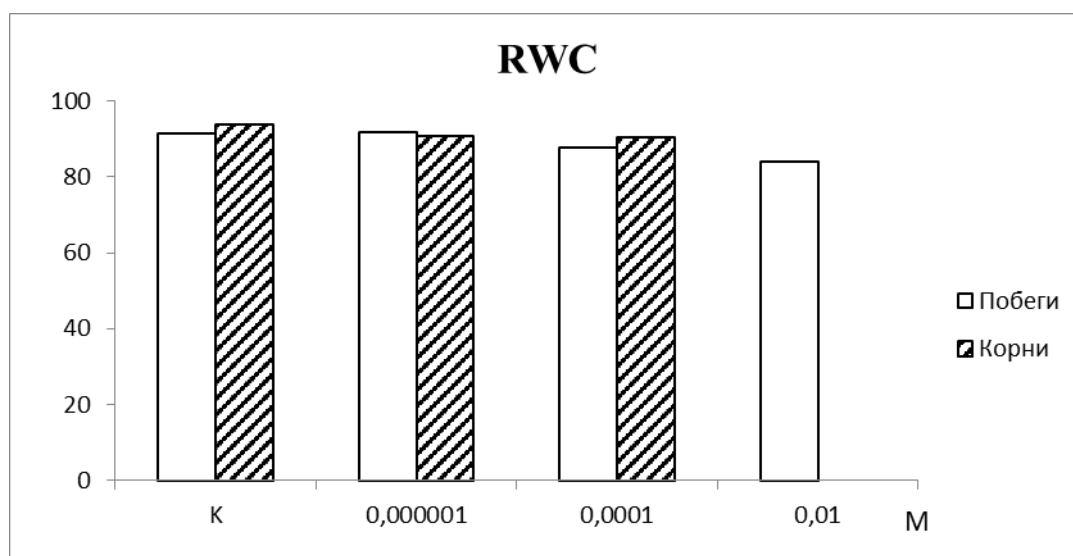


Рис. 4. Относительное содержание воды в побегах и корнях пшеницы в зависимости от концентрации сульфата цинка в среде (К – контроль)

Для корней было показано, что по мере увеличения концентрации сульфата цинка происходило снижение (недостоверное по показателям статистики) относительного содержания воды в корнях пшеницы.

Таким образом, было показано, что присутствие возрастающей концентрации сульфата цинка в среде по-разному влияло на изученные характеристики проростков пшеницы. Стимулирующее влияние было

обнаружено при концентрации соли, равной 10^{-4} М, причем стимулирующий эффект проявлялся в большей степени для побегов, чем корней. Особенно это отражалось на формировании сухой массы органов пшеницы. В то же время показано полное ингибирование формирования корневой системы пшеницы при максимальной концентрации соли в среде. Отчасти такие эффекты можно объяснить через изменение водного баланса. Полученные результаты представляют интерес для дальнейших исследований с целью обнаружения границы концентраций соли цинка, соответствующих оптимальным потребностям семян пшеницы для их прорастания в условиях эксперимента.

Список литературы

1. P-type ATPase heavy metal transporters with roles in essential zinc homeostasis in *Arabidopsis* / D. Hussain, M.J. Haydon, Y.Wang [et al.] // *Plant Cell*. 2004. V. 16. P. 1327–1339.
2. Иванищев В.В., Минайчев В.В., Кузнецов Д.А. Проектная деятельность в школе по биологии растений (монография). Саарбрюккен: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2016. 111с.
3. Disante K.B., Fuentes D., Cortina J. Response to drought of Zn-stressed *Quercus suber* L. seedlings // *Env. Exp. Bot.* 2010. V. 70. P. 96-103.
4. Peck A.W., McDonald G.K. Adequate zinc nutrition alleviates the adverse effects of heat stress in bread wheat // *Plant Soil*. 2010. V. 337. P. 355-374.
5. Zinc alleviates salt stress and increases antioxidant enzyme activity in the leaves of pistachio (*Pistacia vera* L. 'Badami') seedlings / V. Tavallali, M. Rahemi, S. Eshghi [et al.] // *Turk. J. Agr. Forest.* 2010. V. 34(4). P. 349-359.
6. Tsonev T., Lidon F.J.C. Zinc in plants – An overview // *Emir. J. Food Agric.* 2012. V. 24(4). P. 322–333.
7. Alloway B.J. Zinc in Soils and Crop Nutrition // *Publ. of International Zinc Association*. URL: http://www.iza.com/Documents/Communications/Publications/ALLOWAY_PRINT.pdf. 2004
8. Brennan R. F.. Zinc Application and Its Availability to Plants. Ph. D. dissertation. School of Environmental Science, Division of Science and Engineering, Murdoch University. 2005. URL: https://www.researchgate.net/publication/43979995_Zinc_application_and_its_availability_to_plants
9. Lin C.W., Chang H.B., Huang H.J. Zinc induces mitogen-activated protein kinase activation mediated by reactive oxygen species in rice roots // *Plant Physiol. & Biochem.* 2005. V. 43. P. 963-968.
10. Cakmak I. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species // *New Phytol.* 2000. V. 146. P. 185–205.

11. López-Millán A.F., Ellis D.R., Grusak M.A. Effect of zinc and manganese supply on the activities of superoxide dismutase and carbonic anhydrase in *Medicago truncatula* wild type and *raz* mutant plants // Plant Sci. 2005. V. 168. P. 1015-1022.
12. Hormesis: A revolution in biology, toxicology and medicine / Mattson M.P., Calabrese E.J., eds. New York, Dordrecht, Heidelberg, London: Springer, 2010.
13. Gonzalez A., Chumillas V., del Carmen Lobo M. Effect of Zn, Cd and Cr on growth, water status and chlorophyll content of barley plants (*H. vulgare* L.) // Agricultural Sciences. 2012. V. 3 (4). P. 572-581.
14. Влияние ионов цинка и никеля на формирование проростков *Pisum sativum* L. / Минайчев В.В., Кузнецов Д.А., Сиголаева Т.Е. [и др.] // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. 2015. Вып. 3. С. 292-304.

Мазов Владислав Владимирович, студент, mazoff2014@yandex.ru, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого,
Иванищев Виктор Васильевич, д-р биол. наук, проф., зав. кафедрой, avdey_VV@mail.ru, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого

FORMATION OF WHEAT SEEDLINGS IN THE PRESENCE OF ZINC SULFATE IN THE MEDIUM

V.V. Mazov, V.V. Ivanishchev

*The paper presents the results of a study on the effect of different concentrations of zinc sulfate on the germination of wheat seeds (*Triticum aestivum* L.) at the early stage of ontogenesis. The positive effect of the presence of salt at a concentration of 0.1 mM on such indicators as shoot length, wet and dry weight of shoots and roots is shown. A complete inhibition of the formation of the root system was noted at a concentration of 10 mM zinc sulfate in the medium. The insignificant influence of the presence of salt in the medium on the value of the relative water content in wheat seedlings is shown. The results obtained are of interest to clarify the limits of salt concentrations, at which the stimulation processes change to negative ones for the formation of wheat seedlings.*

*Key words: *Triticum aestivum* L., wheat seedlings, zinc sulfate, shoot length, wet and dry weight, relative water content*

Mazov Vladislav Vladimirovich, student, mazoff2014@yandex.ru, Russia, Tula, Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University,
Ivanishchev Viktor Vasilyevich, Doctor of Biology, Professor, Head of the Department, avdey_VV@mail.ru, Russia, Tula, Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University

УДК 581.1

ВЛИЯНИЕ ПРИСУТСТВИЯ СУЛЬФАТА ЖЕЛЕЗА В СРЕДЕ НА ФОРМИРОВАНИЕ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

С.В. Ручкин, В.В. Иванищев

*Представлены результаты исследования по влиянию различных концентраций сульфата железа (+3) на прорастание семян пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на раннем этапе онтогенеза. Показано негативное влияние присутствия соли в концентрации 0,1 мкМ на лабораторную всхожесть семян, которая при наибольшей концентрации сульфата железа (1 мМ) снижалась до 71 %. Присутствие соли в среде приводило к увеличению только сырой массы побегов при минимальной концентрации (0,1 мкМ), в то время как для всех других показателей наблюдали ингибирующий эффект при всех изученных концентрациях сульфата железа. При этом максимальная концентрация соли (1 мМ) приводила к полному ингибированию формирования корней пшеницы. Полученные результаты представляют интерес для определения минимальных концентраций железа, которые обладали бы стимулирующим эффектом в связи с известным значением железа для физиологических и биохимических процессов и реакций в растениях.*

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., проростки пшеницы, сульфат железа, длина побегов, сырая и сухая масса, относительное содержание воды.

Введение

В группе тяжелых металлов немалая роль принадлежит железу [1]. Оно является незаменимым микроэлементом практически для всех живых организмов, поскольку играет решающую роль в обменных процессах, таких, как синтез ДНК, дыхание и фотосинтез. Кроме того, многие метаболические пути активируются железом, и оно является важным составным компонентом для разных функциональных групп и множества ферментов [2]. Дисбаланс между растворимостью железа в почве и потребностью в нем со стороны растений объясняет основные причины хлороза, вызванные недостатком железа. Даже в случаях достаточного присутствия железа в почвах его биологическая активность низка, потому что оно образует различные плохо растворимые комплексы при нейтральных уровнях рН.

Железо играет значительную роль в различных физиологических и биохимических процессах в растениях. Оно служит одним из компонентов жизненно важных ферментов, например, таких, как цитохромы, которые участвуют в переносе электронов по электрон-транспортным цепям фотосинтеза и дыхания, которые, в свою очередь, обеспечивают важнейшие метаболические процессы живых организмов. В растениях железо включается в синтез хлорофилла и необходимо для обеспечения формирования структуры и функционирования хлоропластов [2, 3].

По содержанию в почвах железо занимает четвертое место среди химических элементов (4,65 %), уступая лишь кислороду, кремнию и алюминию. В почвах и горных породах оно считается макроэлементом. Для растений и животных железо имеет промежуточное положение между макро- и микроэлементами. В аэрированных почвах железо преимущественно содержится в форме Fe^{+3} , главным образом в составе окси-гидроксидных полимеров с чрезвычайно низкой растворимостью.

Для растений железо часто является важным микроэлементом, дефицит которого представляет собой серьезную мировую сельскохозяйственную проблему. Кроме того, ионы этого металла не обладают легкой доступностью в нейтральных и слабощелочных почвах, что приводит к дефициту железа в растениях, несмотря на его обилие в почве. Тридцать процентов глобальных культивируемых почв, содержащих известковые компоненты, характеризуются низкой доступностью железа, потому что железо присутствует в них в нерастворимых окисленных формах [4].

Железо является третьим по величине ограничивающим питательным веществом для роста и метаболизма растений, в первую очередь, из-за низкой растворимости окисленной формы железа в аэробных средах. Дефицит железа является распространенным недостатком питания для многих растений, что приводит к снижению урожайности и ухудшению качества урожая [5].

Между высокой концентрацией тяжелых металлов в почве и проявлением симптомов токсичности существуют два типа взаимосвязей. С одной стороны, тяжелые металлы конкурируют с основными минеральными питательными веществами в ходе поглощения, тем самым нарушая минеральное питание растений. С другой стороны, после поглощения растением они могут накапливаться в растительных тканях и клеточных компартментах, что в конечном итоге нарушает протекание нормального общего метаболизма растения [3-5].

В связи с этим изучение вопросов по влиянию разных концентраций ионов железа на формирование растений является актуальным.

В то же время изучение широкого спектра концентраций тяжелых металлов представляет интерес для развития одного из новых направлений в науке, которое обозначают термином гормезис и которое занимается пристальным изучением особенного действия низких и высоких доз фактора (здесь – содержания вещества в среде) на живые системы [6].

Поэтому цель работы состояла в изучении влияния широкого спектра доз железа (в виде соли сульфата) на процесс формирования проростков пшеницы на ранней стадии онтогенеза.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали пшеницу яровую (*Triticum aestivum* L.). Наблюдения проводили за формированием проростков. Семена промывали в растворе перманганата калия, затем проточной водой. Растения выращивали в виде водной культуры, используя дистиллированную воду в контрольном варианте и с добавлением соли металла – $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ в дистиллированную воду (10^{-7} ; 10^{-5} ; 10^{-3} М) в опытных пробах.

Для получения проростков по 20 семян помещали в сосуды объемом 0,2 л, наливали воду или раствор соли в объеме 0,05 л и проращивали при температуре 20-22 °С при естественном освещении. В ходе формирования растений растворы меняли 2 раза.

На четвертые сутки определяли всхожесть семян. Для оценки токсического влияния ионов на 10 сутки после начала инкубации измеряли длину побега, а также их сырую и сухую массу.

Содержание воды рассчитывали, как описано ранее [7].

Эксперименты проведены в трех биологических повторностях. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Excel. На рисунках приведены средние величины. Уровень значимости результатов соответствует $P=0,05$.

Результаты и их обсуждение

Изучение влияния сульфата железа (Fe^{3+}) на всхожесть семян пшеницы показало, что присутствие низкой концентрации сульфата железа в среде приводило к небольшому увеличению процента прорастания семян (95 %), а при наиболее высокой концентрации (10^{-3} М) всхожесть составила только 71 % (рис. 1).

При средней концентрации 10^{-5} М всхожесть семян пшеницы была равна всхожести контрольного варианта и составляла 90 %. Таким образом, содержание железа в среде по-разному влияет на всхожесть семян пшеницы.

Похожие результаты были получены при прорастании семян яровой мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. В присутствии наночастиц железа она составила 95 % от контрольного варианта, при воздействии Fe_3O_4 – 90 %, как и в присутствии Fe^0 – 90 % [8].

Изучение влияния ионов Fe^{+3} на формирование проростков пшеницы дали следующие результаты. Максимальную длину побегов наблюдали при концентрации 10^{-7} М сульфата железа (рис. 2).

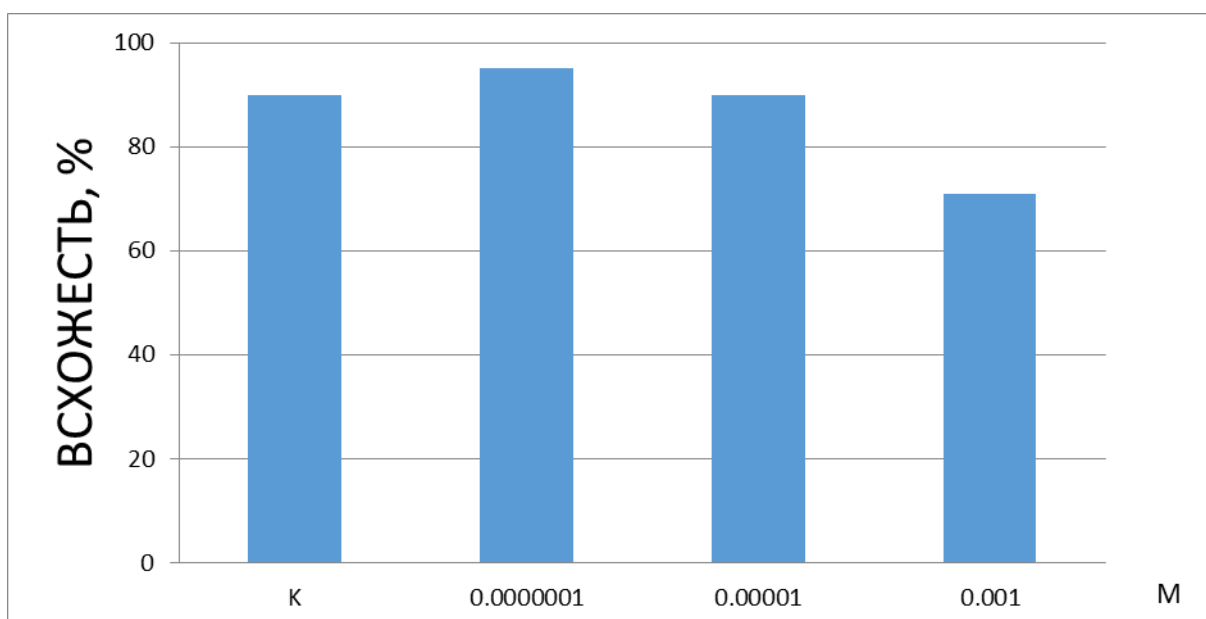


Рис. 1. Влияние разных концентраций сульфата железа в среде на всхожесть семян пшеницы (К – контроль)

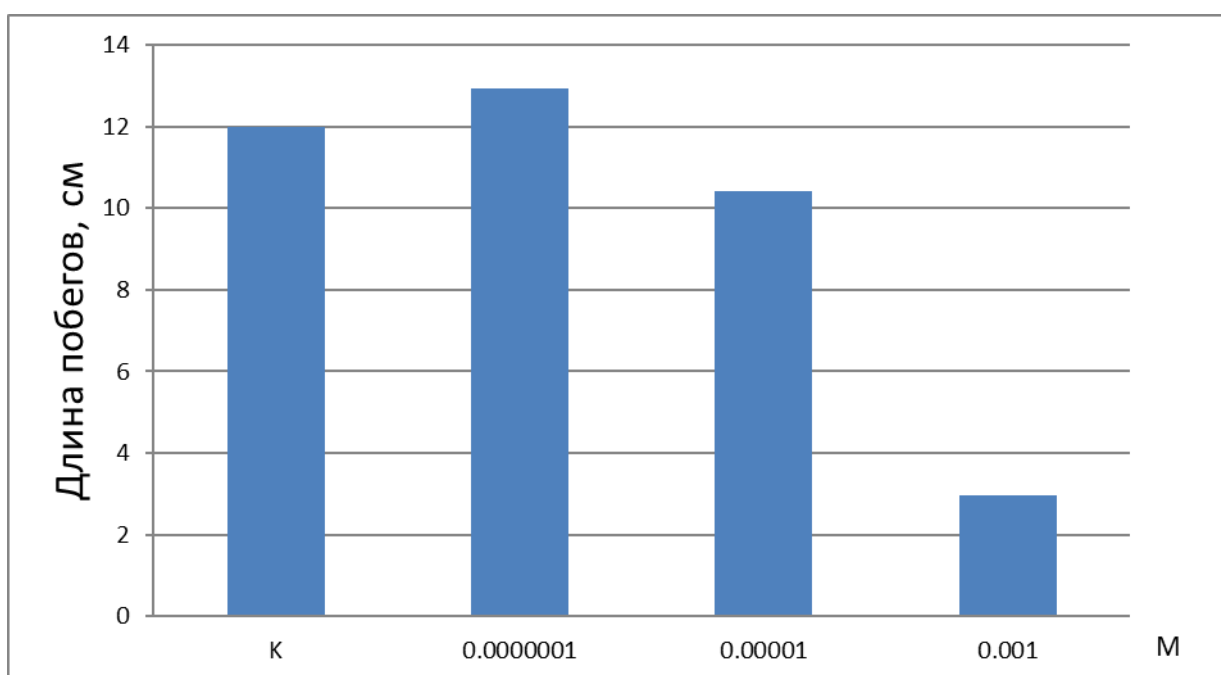


Рис. 2. Влияние разных концентраций сульфата железа в среде на длину побегов пшеницы (К – контроль)

Такой показатель был выше контроля на 8 %. Дальнейшее увеличение содержания соли в среде приводило к статистически достоверному снижению изученного показателя. Так при средней концентрации сульфата железа длина побегов была на 13 % ниже контроля. Наиболее существенное снижение длины побега наблюдали при максимальной концентрации 10^{-3} М. Такой показатель оказался ниже контрольного на 75 %.

Исследование влияние сульфата железа на коэффициент вариации (C_v) величины длины побега показало, что при увеличении концентрации соли от минимальной до максимальной происходило его возрастание. При этом при минимальной концентрации сульфата железа коэффициент вариации был ниже, чем в контрольном образце. Это говорит о положительном влиянии такой концентрации соли на сбалансированность физиологических и биохимических процессов и реакций для формирования проростков. Далее этот показатель увеличивался так, что при концентрации соли 10^{-3} М наблюдали существенное увеличение коэффициента вариации, который был в 2 раза выше, чем в контрольном варианте. Такие данные можно объяснить через нарушения в согласованности взаимодействия процессов, которые отражаются и на других морфофизиологических показателях проростков пшеницы. Описанное возрастающее негативное действие отражается в том числе на процессах, важных для формирования побегов пшеницы и, в частности, такого показателя, как длина.

Изучение влияния присутствия сульфата железа при изученных концентрациях показало положительное влияние на формирование сырой массы побегов, которое наблюдали только при концентрации соли, равной 10^{-7} М. Масса была выше контрольного варианта на 20 % (рис. 3).

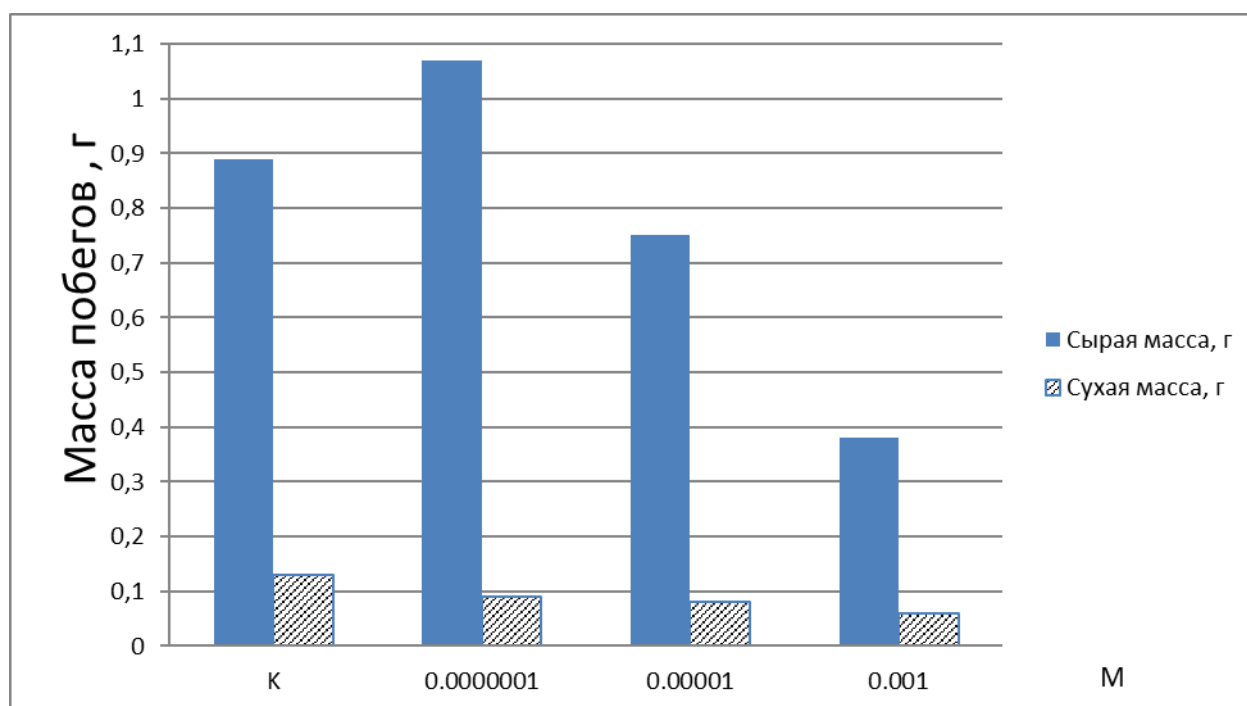


Рис. 3. Влияние сульфата железа на сырую и сухую массу побегов пшеницы (К – контроль)

Дальнейшее увеличение содержания сульфата железа в среде приводило к достоверному снижению изученного показателя. Оно

составило 16 % для средней концентрации соли и 57 % для максимальной концентрации сульфата железа в среде.

Изучение влияния возрастающей концентрации соли на формирование проростков показало, что величина сухой массы побегов была выше в контрольном варианте, в то время как при всех концентрациях сульфата железа в среде (10^{-7} ; 10^{-5} ; 10^{-3} М) наблюдали величины, которые были ниже контрольного варианта (рис. 3). Достоверное уменьшение составило 31 % при минимальной концентрации соли, 38 % - при средней, и самую низкую величину наблюдали при концентрации 10^{-3} М, которая была на 54 % ниже контрольной величины

Изучение влияния присутствия сульфата железа в среде на развитие корневой системы пшеницы показало, что сырая масса корней при минимальной и средней концентрациях соли немного (и недостоверно) отличались от величины контрольного варианта (рис. 4).

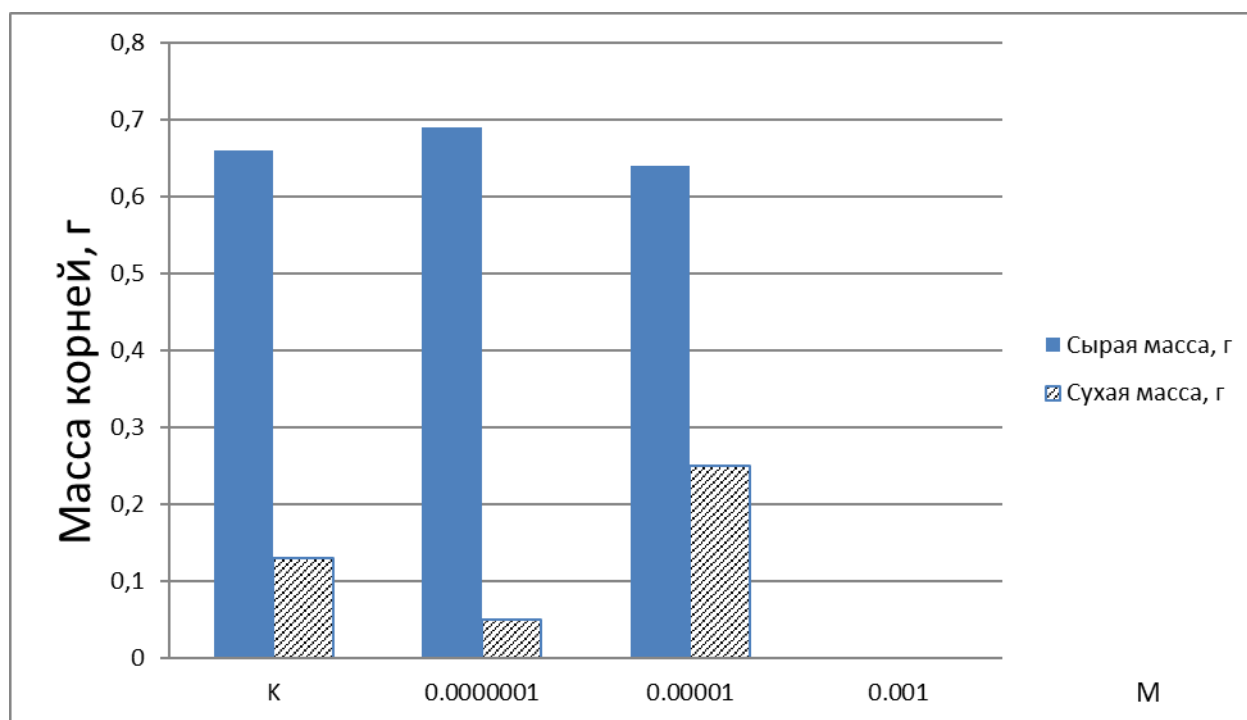


Рис. 4. Влияние сульфата железа на сырую и сухую массу корней пшеницы (К – контроль)

При этом снижение сухой массы корней при минимальной концентрации соли было более значительным, чем для побегов (рис. 3), и составляло здесь 61 % от контроля. При средней концентрации соли, напротив, в отличие от этого показателя для побегов, наблюдали существенное превышение в сравнении с контролем, которое составило 96 %.

На основании таких результатов можно говорить о том, что ионы железа при минимальной концентрации имеют большее значение для формирования побегов, чем корней, что можно объяснить использованием этого металла для процессов и реакций, протекающих как в митохондриях, так и хлоропластах, о чем упоминалось ранее [2-4]. Существенное увеличение сухой массы корневой системы пшеницы при средней концентрации соли в среде можно объяснить избыточной сорбцией металла в этом органе. Однако такое объяснение требует постановки специального эксперимента.

Различия в полученных результатах сырой и сухой массы, а также их изменения в зависимости от концентрации сульфата железа в среде зависят от водного режима, который создается в заданных условиях среды. Поэтому изучение содержания воды в проростках пшеницы представляет интерес в условиях опыта.

Изучение относительного содержания воды в корнях показало, что при низкой концентрации железа в среде происходило повышение показателя в сравнении с контролем на 15 % (рис. 5).

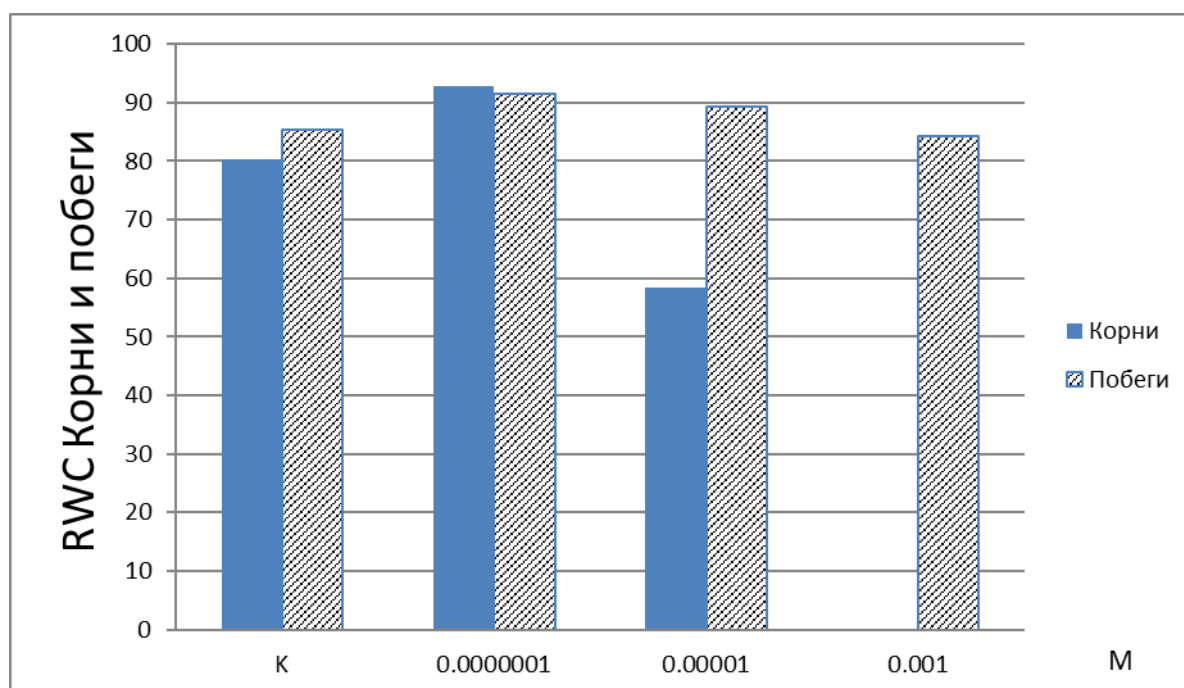


Рис. 5. Относительное содержание воды в корнях и побегах пшеницы в зависимости от концентрации сульфата железа в среде (К – контроль)

При этом при средней концентрации соли в среде содержание воды было ниже, чем в контроле, и оно было меньше на 27 %.

Относительное содержание воды в побегах существенно не менялось с повышением концентрации соли в среде. Наибольшие отклонения составили примерно 3 % от контрольного варианта (рис. 5).

Представленные результаты говорят о том, что присутствие сульфата железа при изученных концентрациях по-разному влияли на водный баланс корней и побегов. При этом присутствие соли в среде оказывало более значительное воздействие на корневую систему, чем на побеги. Возможно, что торможение развития корневой системы было, в первую очередь, связано с негативным действием соли на состояние водного режима клеток корней в ходе их образования через соответствующие молекулярные механизмы.

Таким образом, проведенное исследование показывает, что минимальное содержание сульфата железа в среде в концентрации 10^{-7} М оказывается существенной и важной для формирования как побегов, так и корней пшеницы. При этом более высокие концентрации оказывали негативное влияние на формирование проростков, причем присутствие самой высокой концентрации соли в среде приводило к торможению ростовых процессов таким образом, что корневая система вообще не развивалась.

Список литературы

1. Иванищев В.В. Новые аспекты в изучении адаптации растений к воздействию металлов // Тульский экол. бюллетень, Тула: Гриф и К, 2007. С. 274-277.
2. Физиология растений / Н.Д. Алехина [и др.] М.: Академия, 2005.
3. Rout G.R., Sahoo S. Role of iron in plant growth and metabolism // Reviews in Agricultural Science. 2015. V. 3. P. 1-24.
4. Mori S. Iron acquisition by plants // Curr. Opin. Plant Biol. 1999. V. 2. P. 250-253.
5. Connolly E.L., Guerino M.L. Iron stress in plants // Genome Biol. 2002. V. 3(8): reviews1024.1–reviews1024.4.
6. Hormesis: A revolution in biology, toxicology and medicine / Mattson M.P., Calabrese E.J., eds. New York, Dordrecht, Heidelberg, London: Springer, 2010.
7. Gonzalez A., Chumillas V., del Carmen Lobo M. Effect of Zn, Cd and Cr on growth, water status and chlorophyll content of barley plants (*H. vulgare* L.) // Agricultural Sciences. 2012. Vol. 3. № 4. P. 572-581.
8. Влияние различных форм железа на прорастание семян *Triticum aestivum* L. / Кудрявцева Е.А., Анилова Л.В., Кузьмин С.Н., Шарыгина М.В // Вестник Оренбургского государственного университета. 2013. № 6 (155). С. 46-48.

Ручкин Сергей Владимирович, студент, ragingsmile@gmail.com, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого,

Иванищев Виктор Васильевич, д-р биол. наук, проф., зав. кафедрой, avdey_VV@mail.ru, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого

EFFECT OF THE PRESENCE OF FERROUS SULFATE ON THE FORMATION OF WHEAT SEEDLINGS

S.V. Ruchkin, V.V. Ivanishchev

*The paper presents the results of a study on the effect of various concentrations of ferrous sulfate (+3) on the germination of wheat seeds (*Triticum aestivum* L.) at the early stage of ontogenesis. The negative effect of the presence of salt at a concentration of 0.1 μ M on the laboratory germination of seeds was shown, which decreased to 71% at the highest concentration of ferrous sulfate (1 mM). The presence of salt in the medium led to an increase in only the wet weight of shoots at a minimum concentration (0.1 μ M), while for all other indicators an inhibitory effect was observed for all studied concentrations of ferrous sulfate. The maximum salt concentration (1 mM) resulted in complete inhibition of the formation of wheat roots. The results obtained are of interest for determining the minimum concentrations of ferrous ions, which would have a stimulating effect in connection with the known significance of ferrous for physiological and biochemical processes and reactions in plants.*

*Key words: *Triticum aestivum* L., wheat seedlings, ferrous sulfate, shoot length, wet and dry weight, relative water content*

Ruchkin Sergey Vladimirovich, student, ragingsmile@gmail.com, Russia, Tula, Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University,

Ivanishchev Viktor Vasilyevich, Doctor of Biology, Professor, Head of the Department, avdey_VV@mail.ru, Russia, Tula, Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University

УДК 569.599.902

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ОСТЕОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА НАСЕЛЕННОГО ПУНКТА КОЛЕСОВКА

С. В. Каспер, А. В. Аралов, И. А. Сабаева

Исследованы остеологические материалы животных, обитавших на территории поселения Колесовка в XIII-XIV века. В результате анализа костей животных из раскопок была выявлена видовая принадлежность. Это исследование позволяет уточнить и дополнить представление о природе и хозяйственной деятельности древнего населения центральной России.

Ключевые слова: археологические находки, костные останки, остеологический материал.

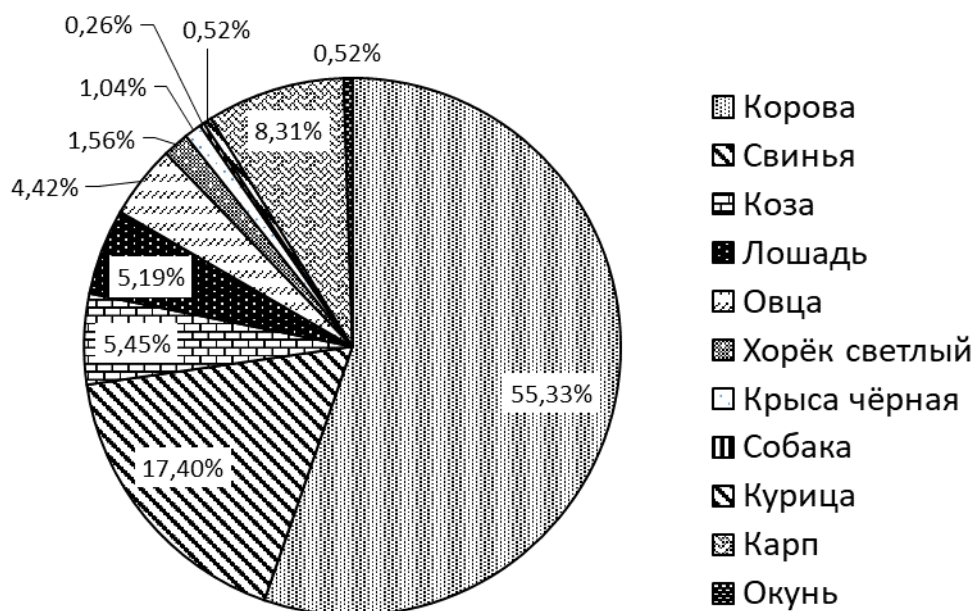
Значительное место в истории России занимает Золотоордынский период. Исследование образа жизни людей той эпохи позволяет расширить представление о развитии нашего государства. Особенный интерес представляет музей-заповедник "Куликово поле", который относится к одним из самых известных объектов культурного наследия России, находящихся в Тульской области. На данной территории помимо памятников архитектуры и природы расположено более 350 памятников археологии, что особенно подчеркивает его историческую важность для современного мира. Изучение остеологического материала, обнаруженного в результате раскопок поселения Колесовка-1 в 2011 году, способно предоставить информацию о фауне местности и распространенности скотоводства, охотничьего и рыбного промысла на данной территории в Монгольском периоде.

В ходе организованной Государственным военно-историческим и природным музеем-заповедником «Куликово поле» археологической экспедиции под руководством кандидата исторических наук А. Н. Наумова было обнаружено 385 экземпляров остеологических останков, среди которых были костные материалы, зубные фрагменты и чешуя. Для наибольшей точности и достоверности, помимо полевых условий определение и анализ находок проводилось в Тульском государственном педагогическом университете на кафедре биологии и экологии. Для этого в ходе работы были задействованы методики, предложенные такими исследователями как? А. И. Акаевский, Е. Е. Антипина, В. И. Громова, Т. Martin [1 - 4].

Исходя из полученных данных, можно отметить, что изучаемые остеоматериалы принадлежат второй половине XIII века - третьей четверти XIV века; большая часть из них – 368 экз. (95,58 % от общего количества находок) – является останками пищевых объектов. О чем

свидетельствуют повреждения костей крупного и мелкого рогатого скота, свиньи и лошади, среди которых порезы, зарубы и трещины, предположительно оставленные орудиями хозяйственной деятельности. Помимо этого присутствуют образцы с характерными следами горения, то есть обугленные – 23 экз. (5,97 % от общего количества находок), из них корова – 14 экз. (3,63 %), свинья – 7 экз. (1,81 %) и лошадь – 2 экз. (0,52 %). Вышеизложенное дает основание полагать, что население Колесовки в Монгольском периоде активно использовало в пищу домашне-хозяйственных животных, и что в целом скотоводство имело большое значение в их жизни.

Исучаемые костные материалы по итогам идентификации были отнесены к 3 классам: Млекопитающие, Птицы, Костные рыбы, – 7 отрядам, 9 семействам, 11 родам, 11 видам (рисунок).



Процентное содержание останков различных видов животных в раскопе

Анализ остеологических материалов показал, что костные останки принадлежат как зрелым, так и молодым животным, однако преобладающее число костей относится к взрослым особям – 329 экз. (85,45 % от общего количества находок). Также большую часть коллекции, полученной в ходе раскопок поселения, составляют остеоматериалы, принадлежащие классу Млекопитающих – 349 экз. (90,65 %). Отмечается, что большинство экземпляров из этой категории относится к домашним

животным, используемым в хозяйстве в качестве источника питания, хотя и представленное относительным разнообразием видов (табл. 1).

Таблица 1

Распределение остеологического материала, относительно вида и отдела скелета среди домашних животных

Вид	Число находок, % от общего	Число элементов скелета, экз.						
		Общее	Кости конечностей	Пояс конечностей	Череп	Позвонки	Зубы и зубочел. сегм.	Ребра
Свинья (<i>Sus scrofa ferus Linnaeus, 1758</i>)	17,40	67	27	5	18	0	12	5
Корова (<i>Bos taurus Linnaeus, 1758</i>)	55,32	213	69	15	86	12	29	2
Овца (<i>Ovis aries Linnaeus, 1758</i>)	4,42	17	8	0	1	0	8	0
Лошадь (<i>Equus caballus Linnaeus, 1758</i>)	5,19	20	6	5	0	0	9	0
Коза (<i>Capra hircus Linnaeus, 1758</i>)	5,45	21	3	0	11	0	7	0
Курица (<i>Gallus gallus domesticus Linnaeus, 1758</i>)	0,52	2	2	0	0	0	0	0
Собака (<i>Canis lupus familiaris Linnaeus, 1758</i>)	0,26	1	0	0	0	0	1	0

В коллекции остеологических материалов непосредственно к домашним животным относится 341 образец (88,57 % от общего количества находок). Согласно приложенной выше табл. 1, можно предположить, что жители поселения Колесовка вели достаточно оседлый образ жизни, в котором основным видом деятельности являлись скотоводство и земледелие. В свою очередь, наиболее распространенным являлся крупный рогатый скот, в меньшей степени – свиньи, мелкий рогатый скот и лошади. В сравнении с ними количество разводимой птицы и иных животных (собака) можно считать незначительным.

По отношению к остеологическим материалам домашних животных количество образцов диких особей крайне мало и представлено двумя видами лишь взрослых животных: крысы черной и хорька светлого (табл. 2) В общей сумме их костные материалы немногочисленны – всего 10 образцов (2,59 % от общего количества находок). А так как данные виды не принадлежат к объектам охоты, логичным будет вывод, что

охотничий промысел в поселении был не востребованным по определенным причинам родом деятельности или же почти отсутствовал, не являясь необходимым для выживания занятием.

Таблица 2

Распределение остеологического материала, относительно вида и отдела скелета среди диких животных

Вид	Число находок, % от общего	Число элементов скелета, экз.							
		Общее	Кости конечностей	Пояс конечностей	Череп	Позвонки	Зубы и зубочел. сегм.	Рёбра	Бакулюм
Крыса черная (<i>Rattus rattus</i> , Linnaeus, 1758)	1,04	4	0	0	3	0	1	0	0
Хорек светлый (<i>Mustela eversmanni</i> Lesson, 1827)	1,56	6	1	0	0	4	0	0	1

К числу обнаруженных при проведении археологической экспедиции останков так же относится 34 экземпляра (8,83 % от всего количества находок), принадлежащих классу Костных рыб. Это прежде всего свидетельствует об активном рыбном промысле как виду хозяйственной деятельности среди жителей поселения Колесовка. Остеологические материалы в данном случае представляют собой кухонные останки. Почти все находки являются чешуей – 33 экз. (8,57 % от общего количества находок). Видового разнообразия среди останков не наблюдается. Остеоматериал представлен только двумя видами: карп и окунь – зрелых особей (табл. 3).

Их размеры дают возможность предполагать об употреблении жителями в пищу преимущественно крупной рыбы, так как останки, которые могли бы указать на ловлю и питание более мелкими видами отсутствуют.

В заключение хочется отметить, что самые первые археологические раскопки на территории древнерусского селения Колесовка-1 проводятся с 80-х годов двадцатого века, и накопленные за это время материалы с достаточной достоверностью могут указывать на характерные виды деятельности населения в разные периоды времени. Исследование, проведенное в 2011 году, отражает основные виды занятий, присущие населению в Золотоордынский период.

Таблица 3

Распределение остеологического материала, относительно вида и отдела скелета среди костных рыб

Вид	Число находок, % от общего	Число элементов скелета, экз.				
		Общее	Череп	Позвонки	Ребра	Чешуя
Карп (<i>Cyprinus carpio</i> Linnaeus, 1758)	8,31	32	1	0	0	31
Окунь (<i>Perca fluviatilis</i> Linnaeus, 1758)	0,52	2	0	0	0	2

Наиболее распространенным среди них является скотоводство, преимущественно разведение парнокопытных животных в целях использования их в дальнейшем в пищу. Об этом указывают приложенные выше материалы о количестве найденных видов и характере повреждения их костных останков. Особенно следует заметить, что среди остеоматериалов в наличии нет ни одного вида, являющегося объектом охотничьего промысла. Это может иметь предположительно несколько причин. Можно было бы сказать, что дикая фауна данной местности была представлена достаточно скудным видовым и количественным разнообразием, делая охоту малоперспективным занятием. Однако исследования более ранних годов обнаруживали останки таких видов, как куница, заяц, благородный олень, лисица, косуля и другие, относящиеся к промежутку с конца XII в. по третью четверть XIV в. Из чего можно предположить, что в Монгольском периоде население Колесовки-1 либо практически не нуждалось в охотничьем промысле, удовлетворяясь количеством пищи, полученной от ведения животноводства, земледелия и рыбной ловли, либо значительная часть результатов охоты, в частности пушных зверей, была средством торговли или облагалась данью Золотой Орде [5 - 7].

Авторы статьи выражают глубокую признательность заместителю директора по науке Государственного военно-исторического и природного музея-заповедника «Куликово поле», кандидату исторических наук А. Н. Наумову за оказание значительной помощи при организации и проведении исследования Колесовки-1 в 2011 году и ранее.

Список литературы

1. Акаевский А. И. Анатомия домашних животных. М.: Просвещение, 1968. 608 с.
2. Антипина Е. Е. Археозоологические исследования: задачи, потенциальные возможности и реальные результаты // Новейшие

археозоологические исследования в России: К столетию со дня рождения В.И. Цалкина. М.: Языки славянской культуры, 2003. С. 7-33.

3. Громова В. И. Определитель млекопитающих СССР по крупным трубчатым костям: труды Комиссии по изучению четвертичного периода. Л.: Академия наук СССР, 1950. Т. 9. 241 с.

4. Martin T. J. General Guide to osteology. Springfield: Illinois State Museum, 1989. 15 p.

5. Наумов А. Н., Аралов А. В., Татаринцева С. А. О фауне селища Колесовка-1 на Куликовом поле // Ученые записки Орловского государственного университета. 2015. №4. С. 457.

6. Делян Г. С., Аралов А. В., Наумов А. Н. Находки остеологического материала поселения Тимофеевка // Университет XXI века: научное измерение: материалы науч. конф. профессорско-преподавательского состава, аспирантов, магистрантов, ТГПУ им. Л. Н. Толстого. Вып. 2. Т. 1. Тула: Изд-во ТГПУ, 2010. С. 252–255.

7. Наумов А. Н. Отчет о работах в Кимовском районе Тульской области (район Куликово поле) в 2005 г. // Архив ИА РАН. № 1. С. 6-60.

Kasper Светлана Васильевна, студент, swk1431@gmail.com, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого,

Аралов Андрей Викторович, д-р с/х наук, проф., ЕiGtgpu@yandex.ru, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого,

Сабаяева Инесса Александровна, студент, inessasabaeva@rambler.ru, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого

RESULTS OF THE RESEARCH OF OSTEOLOGICAL MATERIAL OF THE ANIMALS SETTLE KOLESOVKA

S. V. Kasper, A. V. Aralov, I. A. Sabaeva

The article is devoted to the study of the osteological materials of animals dwelling in the settlement Kolesovka in XIII-XIV century. According to the results of the analysis of the animal's bones from the excavations the species structure was identified. This research provides a comprehension of the nature and aronomy of ancient population in central Russia.

Key words: archaeological finds, osteological material, bone remains, Tula region, settlement Kolesovka.

Kasper Svetlana Vasil'evna, student, swk1431@gmail.com, Russia, Tula, Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University,

Aralov Andrey Viktorovich, doctor of agricultural sciences, professor, ЕiGtgpu@yandex.ru, Russia, Tula, Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University,

Sabaeva Inessa Alexandrovna, student, inessasabaeva@rambler.ru, Russia, Tula, Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University

УДК 595.79

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О НАХОДКАХ СКОЛИИ-ГИГАНТА *MEGASCOLIA MACULATA* (DRURY, 1773) В ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

С.Н. Мамонтов

Приводятся две новые точки обнаружения *Megascolia maculata* (Drury, 1773) в Тульской области. В 2014 году в окрестностях поселка Механизаторов Тепло-Огаревского района и в 2019 году на территории села Николо-Жупань Одоевского района Тульской области.

Ключевые слова: *Megascolia maculata*, перепончатокрылые

Сколия-гигант *Megascolia maculata* (Drury, 1773) является самым крупным перепончатокрылым в фауне Европы. Самки достигают размеров 6 см в длину. Окраска в основном черная с ярко-желтыми пятнами на 2 и 3 сегментах брюшка, рыжеватыми волосками на последних сегментах брюшка и переднеспинке. Как известно, имаго сколии питаются на цветах, тогда как личинки являются паразитами крупных личинок пластинчатоусых, преимущественно жука-носорога *Oryctes nasicornis* (Linnaeus, 1758).

Эвритопный вид. Населяет степи, редколесья, леса и различные нарушенные местообитания. Обычен в зеленой зоне городов, в населенных пунктах сельского типа и в дачных массивах [7]. Распространен данный вид в Северной Африке, Южной и Юго-Восточной Европе, Средней Азии и Ближнем Востоке. На территории России ранее отмечался только на юге европейской части, Кавказе и в Крыму. Включен в Красные книги Украины и ряда областей России.

В последнее время регистрируется расширение ареала на север. В ряде работ приводятся данные об обнаружении сколии в Нижегородской (Мокроусов, 2014), Липецкой (Цуриков, 2013), Калужской (Алексеев, Матвеев, 2017) областях.

Первые опубликованные данные об обнаружении сколии-гиганта на территории Тульской области датируются 2018 годом в работе Большакова Л.В. Один экземпляр был зафиксирован Н.И. Немовым в окрестностях музея-заповедника «Куликово Поле» на ксерофитном сильно остепенённом участке склона южной экспозиции над ручьем Верхний Дубик 28.06.2018 (Тульская область, Куркинский район, 2 км СЗ. д. Грачевка, урочище Верхний Дубик (53, 584° с.ш., 38, 518° в.д.) [3]).

В данной работе мы дополняем сведения по обнаружению *Megascolia maculata* в Тульской области, включая более раннюю находку – 2014 года.

В 2016 году в ходе выполнения выпускной квалификационной работы на факультете естественных наук ТГПУ им. Л.Н. Толстого

студенткой Морозовой М.В. среди прочего полевого материала был представлен один экземпляр самца сколии *Megascolia maculata*. Данный экземпляр был собран в начале июня 2014 года в окрестностях поселка Механизаторов Тепло-Огаревского района Тульской области (53°41'48.6"N 37°39'21.0"E). Пойман он был на лугу, во время кормления на цветущих растениях. Луг расположен в балке на склоне юго-восточной экспозиции. Данный участок расположен в непосредственной близости впадения балки в речную долину Упы.

Еще один экземпляр сколии-гиганта был отмечен и сфотографирован на территории садового участка в селе Николо-Жупань Одоевского района Тульской области (53°57'38.2"N 36°39'15.3"E) 08.06.2019 года. Данный участок расположен на левобережье реки Упы. Как видно на фото, зарегистрированная особь – самец *Megascolia maculata*, питающийся на цветах чубушника (*Philadelphus* sp.) (рисунок).



Самец Megascolia maculata на цветах чубушника

Анализируя данные о точках обнаружения сколии в Тульской области, можно отметить, что все они связаны с экосистемами, приуроченными к речной сети. Из этого можно сделать предположение, что долины гидрографической сети могут служить миграционными коридорами для данного вида перепончатокрылых. С одной стороны, луговые сообщества с цветущими растениями, расположенные вдоль рек,

могут привлекать взрослых особей и использоваться для перелетов на значительные расстояния. С другой стороны, на реках расположено множество населенных пунктов, к которым тяготеет кормовой объект личинок сколий – *Oryctes nasicornis*. Это связано с большим количеством субстрата для развития личинок жука-носорога, особенно в сельской местности, по сравнению с природными ландшафтами.

Список литературы

1. Алексеев С.К., Матвеев С.Ю. Первые находки сколий *Megascolia maculata* (Drury, 1773) и *Scolia hirta* (Schrank, 1781) (Hymenoptera: Scoliidae) в Калужской области // Эверсманния. Тула. 2017. Вып. 50. С. 52.
2. Белевитин Р.Ю. Гигантская сколия (*S. maculata*). // Красная книга Тамбовской области. Т. Животные. Тамбов: ИЦ Тамбовполиграфиздат, 2000. С. 184.
3. Большаков Л.В. Первая находка сколии *Megascolia maculata* (Drury, 1773) (Hymenoptera: Scoliidae) в Тульской области // Эверсманния. Тула. 2018. Вып. 55-56. С. 70.
4. Ермоленко В.М. Сколия-гигант (*S. maculata*) // Красная книга СССР: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды животных и растений. Т. 1. М., 1984. С. 273 – 274.
5. Мокроусов М.В. Сколия-гигант – *Megascolia maculata* Drury // Красная книга Нижегородской области. Т. 1. Животные. 2-е изд., перераб. и доп. Нижний Новгород. 2014. С. 261–262.
6. Полумордвинов О.А. Фауна и экология ос семейства сколий (Scolioidea, Scoliidae) на территории Пензенской области // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. Саратов: СГУ. 2004. Вып. 3. С. 111 – 116.
7. Фатерыга А. В., Шоренко К. И. Осы-сколии (Hymenoptera: Scoliidae) фауны Крыма. // Українська ентомофауністика. 2012. Т. 3 (2). С. 11–20.
8. Цуриков М.Н. Первые находки сколии-гиганта *Megascolia maculata* (Drury, 1773) (Hymenoptera: Scoliidae) для территории Липецкой области // Эверсманния. Тула. 2013. Вып. 34. С. 60.

*Мамонтов Сергей Николаевич, канд. биол. наук, доц.,
Mamontov_sergey@mail.ru, Россия, Тула, Тульский государственный педагогический
университет им. Л. Н. Толстого*

NEW INFORMATION ABOUT THE FINDINGS OF MEGASCOLIA MACULATA (DRURY, 1773) IN TULA REGION

Mamontov S.N.

*Two new detection points of *Megascolia maculata* (Drury, 1773) in Tula region are presented. 2014 near the village of Mechanizatorov from Teplo-Ogarevsky district and 2019 in the village of Nikolo-Zhupan from Odoevsky district of Tula region.*

*Key words: *Megascolia maculate*, Hymenoptera.*

*Mamontov Sergey Nikolaevich, candidate of biological sciences, docent,
Mamontov_sergey@mail.ru, Russia, Tula, Tolstoy Tula State Pedagogical University*

СОДЕРЖАНИЕ

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

*Ягольник Е. А., Фомкина М. Г., Замятина Е. А., Аппазов Н. О.,
Ибадуллаева С. Ж., Ким Ю. А.*

Полиэлектролитные микрокапсулы с инкапсулированной уреазой:
измерение рН среды гидрофобным флуоресцентным зондом 3

*Блохин И. В., Атрощенко Ю. М., Шахкельдян И. В.,
Блохина Н. И., Никишина М. Б.*

Квантово-химическое моделирование относительной стабильности
интермедиатов реакции гидридных аддуктов м-динитробензола
с катионом фенилдиазония..... 15

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Мазов В. В., Иванищев В. В.

Формирование проростков пшеницы в присутствии сульфата цинка
в среде..... 23

Ручкин С. В., Иванищев В. В.

Влияние присутствия сульфата железа в среде
на формирование проростков пшеницы 31

Каспер С. В., Аралов А. В., Сабаяева И. А.

Результаты исследования остеологического материала населенного
пункта Колесовка 40

Мамонтов С. Н.

Новые сведения о находках сколии-гиганта *Megascolia maculata* (Drury,
1773) в Тульской области 46

Научное издание

**ИЗВЕСТИЯ
ТУЛЬСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА**

ЕСТЕСТВЕННЫЕ НАУКИ

Выпуск 2

Редактор И.В. Блохин

Учредитель:

ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет»
300012, Тула, просп. Ленина, 92

Изд. лиц. ЛР № 020300 от 12.02.97.
Подписано в печать 17.06.19. Дата выхода в свет 24.06.19.
Формат бумаги 70x100 1/16. Бумага офсетная.
Усл. печ. л. 21,2.
Тираж 500 экз. Заказ 075
Цена свободная

Адрес редакции и издателя:
300012, г. Тула, просп. Ленина, 95

Отпечатано в Издательстве ТулГУ
300012, г. Тула, просп. Ленина, 95