

Пермский государственный национальный исследовательский университет  
Министерство образования и науки Пермского края  
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН  
Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления  
рисками здоровью населения  
МОО «Микробиологическое общество»  
ООО «Имбиком»  
ООО «Лаборатория аргумент»

## **СИМБИОЗ-РОССИЯ 2019**

Материалы XI Всероссийского конгресса молодых ученых-биологов  
с международным участием  
(Пермь, 13–15 мая 2019 г.)



Пермь 2019

УДК 57+58+59+613  
ББК 28.0  
С37

**Симбиоз-Россия 2019: материалы XI Всерос. конгр. молодых ученых-биологов с межд. участием (Пермь, 13–15 мая 2019 г.) / Перм. гос. нац. исслед. ун-т. – Пермь, 2019. – 287 с.**

ISBN 978-5-7944-3292-3

Сборник включает материалы XI Всероссийского конгресса молодых ученых-биологов с международным участием «Симбиоз-Россия 2019».

Работы посвящены различным проблемам в области биологических наук: микробиологии и биотехнологии, ботаники и генетики, зоологии позвоночных и беспозвоночных, экофизиологии растений и экологии почв, фундаментальной и прикладной медицине. Материалы представляют интерес для специалистов, работающих в различных областях биологии, химии и медицины.

**УДК 57+58+59+613  
ББК 28.0**

*Издается по решению оргкомитета Всероссийского конгресса молодых ученых-биологов с международным участием «Симбиоз-Россия 2019»*

Главный редактор **В.А. Черешнев**

Редакционная коллегия:

**А. А. Елькин, И. Б. Ившина, А. Б. Крашенинников, Н. Н. Паньков, С. В. Боронникова,  
С. А. Овеснов, О. З. Еремченко, С. Л. Есюнин, М. А. Бакланов, О. Ю. Устинова**

*Конференция проводится при финансовой поддержке  
Министерства образования и науки Пермского края, договор о предоставлении  
гранта на проведение научного мероприятия № Д-26/007*

ISBN 978-5-7944-3292-3

© ПГНИУ, 2019

## **ПРЕДСЕДАТЕЛЬ ОРГКОМИТЕТА:**

Макарихин И.Ю. д.ф.-м.н., ректор ПГНИУ, Пермь, Россия

## **ЧЛЕНЫ ОРГКОМИТЕТА:**

Бакланов М.А. к.б.н., заведующий кафедрой ПГНИУ, Пермь, Россия

Боронникова С.В. д.б.н., заведующая кафедрой ПГНИУ, Пермь, Россия

Бочарова А.М. начальник отдела по развитию высшего образования и науки  
Министерства образования и науки Пермского края, Пермь, Россия

Ветров А.Л. к.г.н., проректор по научной работе и инновациям ПГНИУ, Пермь, Россия

Гаврин А.Ю. PhD, научный сотрудник Кембриджского университета, Кембридж,  
Великобритания

Демаков В.А. чл.-корр. РАН, директор “ИЭГМ УрО РАН”, Пермь, Россия

Еремченко О.З. д.б.н., заведующая кафедрой ПГНИУ, Пермь, Россия

Есюнин С.Л. д.б.н., заведующий кафедрой ПГНИУ, Пермь, Россия

Жук В.В. к.б.н., зам. декана по внеучебной работе ПГНИУ, Пермь, Россия

Ившина И.Б. академик РАН, зав. лаб. “ИЭГМ УрО РАН” профессор ПГНИУ, Пермь, Россия

Каннингхем К.Д. PhD, директор компании “Ресурсные решения Файфа”, эксперт  
Европейской комиссии по программе “Horizon 2020”, Эдинбург, Великобритания

Кристофи Н. PhD, профессор Нэпиер университета, Эдинбург, Великобритания

Нечитайло Г.С. д.б.н., с.н.с. ИБХФ РАН, Москва, Россия

Овеснов С.А. д.б.н., профессор, зам. декана по научной работе ПГНИУ, Пермь, Россия

Паньков Н.Н. проф., и.о. декана биологического факультета ПГНИУ, Пермь, Россия

Пунина К.А. нач. управления по общественным связям ПГНИУ, Пермь, Россия

Устинова О.Ю. д.м.н., заведующая кафедрой ПГНИУ, Пермь, Россия

Черешнев В.А. академик РАН, гл. науч. сотр. ИИФ УрО РАН, Екатеринбург, Россия

Щетко В.А. к.б.н., начальник НПЦБ ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси, г.  
Минск, Республика Беларусь

## **ПРЕДСЕДАТЕЛЬ ПРОГРАММНОГО КОМИТЕТА:**

Елькин А.А. к.б.н., с.н.с. “ИЭГМ УрО РАН”, доцент ПГНИУ, Пермь, Россия

Крашенинников А.Б. к.б.н., доцент ПГНИУ, Пермь, с.н.с ИБПС ДВО РАН, Магадан, Россия

## **ЧЛЕНЫ ПРОГРАММНОГО КОМИТЕТА:**

Арисова А.К.	магистрант ПГНИУ, Пермь, Россия
Бажутин Г.А.	аспирант ПГНИУ, Пермь, Россия
Боталова К.И.	ассистент, ПГНИУ, Пермь, Россия
Ефимик Е.Г.	к.б.н., доцент ПГНИУ, Пермь, Россия
Заморина С.А.	д.б.н., в.н.с. “ИЭГМ УрО РАН”, профессор ПГНИУ, Пермь, Россия
Крайнева Т.С.	ассистент, ПГНИУ, Пермь, Россия
Криворучко А.В.	к.б.н., с.н.с. “ИЭГМ УрО РАН”, доцент ПГНИУ, Пермь, Россия
Кузнецова М.В.	д.м.н., в.н.с. “ИЭГМ УрО РАН”, ПГМУ им. им.ак. Е.А.Вагнера, Пермь
Кузнецова Т.В.	зам. декана по учебной работе ПГНИУ, Пермь, Россия
Литвиненко Л.В.	к.б.н., н.с. “ИЭГМ УрО РАН”, Пермь, Россия
Лучникова Н.А.	аспирант ПГНИУ, Пермь, Россия
Максимов А.Ю.	к.б.н., с.н.с. “ИЭГМ УрО РАН, доцент ПГНИУ, Пермь, Россия
Негорелова Е.В.	магистрант ПГНИУ, Пермь, Россия
Пелеева А.Р.	магистрант ПГНИУ, Пермь, Россия
Попов Л.А.	магистрант ПГНИУ, Пермь, Россия
Сайдакова Е.В.	к.б.н., н.с. “ИЭГМ УрО РАН”, доцент ПГНИУ, Пермь, Россия
Селезнева А.А.	магистрант ПГНИУ, Пермь, Россия
Тендрякова С.П.	к.х.н., доцент ПГНИУ, Пермь, Россия
Ушаков В.Ю.	к.б.н., доцент ПГНИУ, Пермь, Россия
Храмцов П.В.	к.б.н., н.с. ИЭГМ УрО РАН, доцент ПГНИУ, Пермь, Россия
Чудинов В.С.	директор ООО “Имбиокон”, Пермь, Россия
Шибанова Н.Л.	к.б.н., доцент ПГНИУ, Пермь, Россия

# СЕКЦИЯ I

## МИКРОБИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УСТОЙЧИВОСТИ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ *RHODOCOCCLUS* SPP. К ИНДЕНУ

Андреева Д.С.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., профессор Куюкина М.С.**

Актинобактерии рода *Rhodococcus* способны метаболизировать ароматические углеводороды и их производные. Начальный этап биодegradации углеводородов включает моно- или диоксигенирование с образованием спиртов или диолов [1]. Инден является двуциклическим ароматическим углеводородом с молекулярной формулой C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>. Он состоит из бензольного кольца, конденсированного с циклопентеновым кольцом. Инден с помощью микроорганизмов может быть преобразован в различные индандиолы, два из которых являются потенциальными предшественниками индинавира сульфата, ингибитора протеазы ВИЧ. Поскольку инден является высокотоксичным соединением [2], для биотрансформации необходимы бактериальные штаммы, устойчивые к его высоким концентрациям.

Целью исследования было изучение влияния индена на жизнеспособность коллекционных культур *Rhodococcus* spp. для последующего отбора наиболее устойчивых штаммов. Использовали 25 штаммов видов *R. erythropolis*, *R. jostii*, *R. opacus*, *R. rhodochrous* и *R. ruber* (по 5 штаммов каждого вида) из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WDCM # 768; [www.iegmcol.ru/strains](http://www.iegmcol.ru/strains)). Для определения жизнеспособности родококков при воздействии исследуемых (0,002-5,0 об.%) концентраций индена использовали окрашивание йодонитротетразолия хлоридом, INT (Sigma-Aldrich, США), который восстанавливался до темно-красного формазана в присутствии активно респираторных клеток. Поскольку инден (95%, Energy Chemical, Китай) не растворялся в минеральной среде, для получения гомогенной эмульсии использовали ультразвуковую обработку (5А, 5 мин). Эмульсию индена хранили в темном флаконе для защиты от фотоокисления. Готовили десятикратные серийные разведения индена в 96-луночных микропланшетах, в которые вносили суспензии родококков. После окрашивания INT измеряли оптическую плотность на микропланшетном ридере (Multiskan Ascent, Thermo, Финляндия) при 630 нм.

Установлено ингибирующее действие индена на большинство исследуемых культур *Rhodococcus* spp. (рисунок). При этом родококки, образующие клеточные агрегаты (гидрофобные), были в 1,5 раза устойчивее к действию индена по сравнению с культурами, гомогенно распределенными (гидрофильными) в культуральной среде. Исследованные штаммы *R. rhodochrous* и *R. ruber* проявляли наиболее высокую устойчивость к индену (МИК >5 об. %), тогда как представители видов *R. jostii* и *R. opacus* были чувствительны к данному веществу (МИК = 0,25-2,5 об. %). Штаммы *R. erythropolis* занимали промежуточное положение по устойчивости к индену (МИК = 2,5 об.%). Отдельные культуры *R. rhodochrous* были способны к усиленному росту в присутствии углеводорода. Так, показатели жизнеспособности клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 757 и ИЭГМ 1360 при концентрации индена 2,5 и 5,0 об. % превышали показатели биотического контроля в 3 и 1,5 раза соответственно. Данные культуры отобраны нами для использования в процессах биотрансформации индена с целью получения биологически активных веществ.

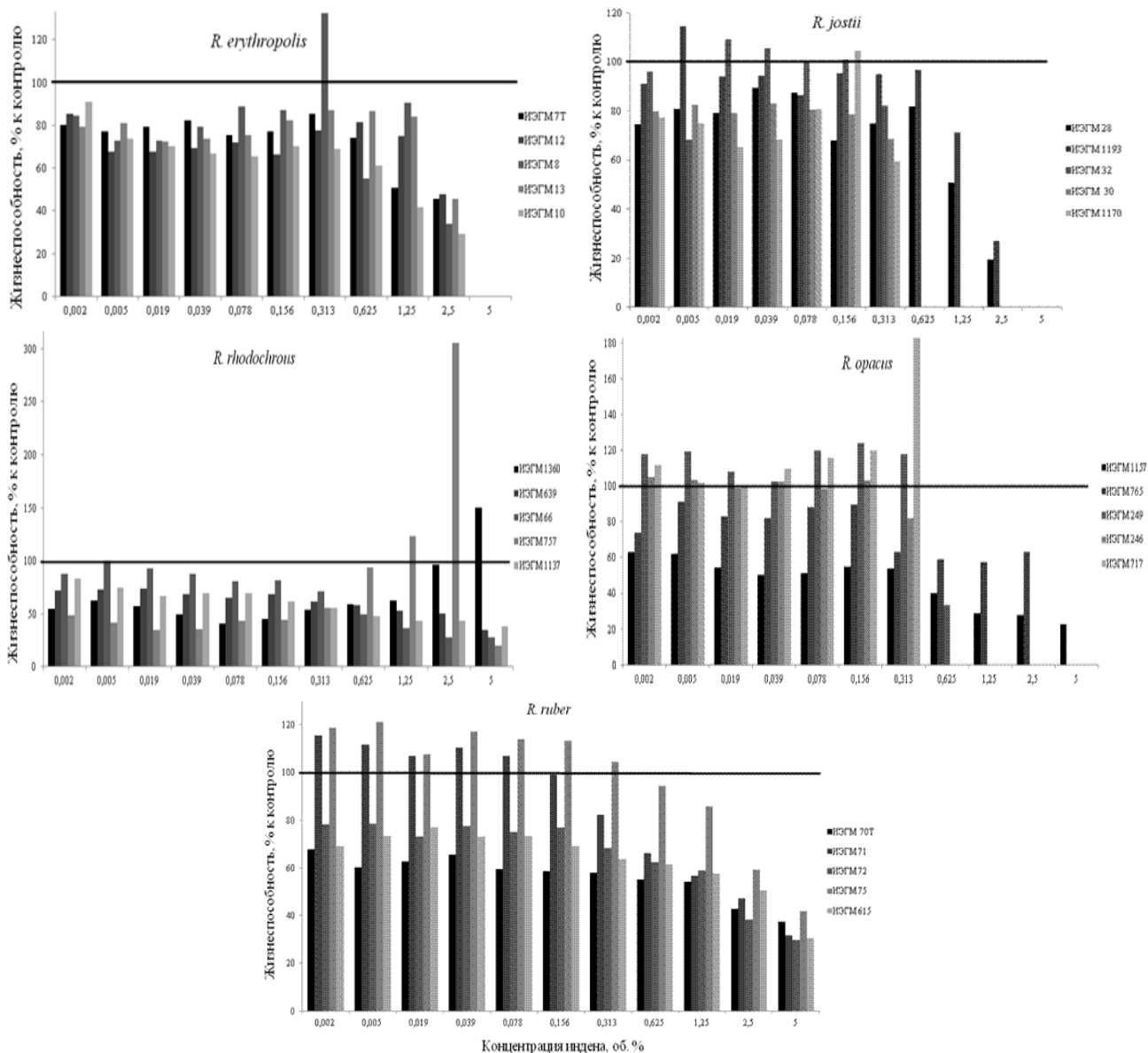


Рисунок. Влияние индена на жизнеспособность коллекционных штаммов *Rhodococcus* spp.

### Библиографический список

1. Isolation and characterization of indene bioconversion genes from *Rhodococcus* strain I24 / S.L. Treadway [et al.] // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1999. V. 51. P. 786–793.
2. Fed-batch bioconversion of indene to *cis*-indandiol A. Amanullah [et al.] // Enzyme Microbial Technology. 2002. V. 31. P. 954–967

# БИОДЕСТРУКЦИЯ ФАРМПОЛЛЮТАНТА ИБУПРОФЕНА

Бажутин Г.А., Ширинкина Л.И., Тюмина Е.А.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н, акад. РАН, проф. кафедры микробиологии и иммунологии  
ПГНИУ Ившина И.Б.**

Бактериальная деструкция – эффективный способ детоксикации фармполлютантов в окружающей среде [1]. Среди известных микроорганизмов наибольшим разнообразием деструктируемых экотоксикантов обладают актинобактерии рода *Rhodococcus* [2,3]. Многоцелевые оксигеназные системы родококков катализируют процессы прямого окисления поллютантов, в том числе с введением гидроксильных групп в ароматическое кольцо молекул до полного разрушения структуры химического вещества [4].

Цель настоящей работы – оценка способности родококков к биодеструкции ибупрофена – производного фенилпропионовой кислоты, часто детектируемого в природной окружающей среде фармполлютанта. В работе использовали штаммы *R. cercidiphylli* ИЭГМ 1184 и *R. cerastii* ИЭГМ 1243 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним коллекции ИЭГМ, реестровый номер Уникальной научной установки 73559, номер 768 во Всемирной федерации коллекции культур, [www.iegmc.ru/strains](http://www.iegmc.ru/strains)).

Детектирование ибупрофена и его метаболитов проводили с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии. Ответные реакции родококков на воздействие фармполлютанта исследовали с использованием комбинированной системы сканирования, состоящей из атомно-силового и конфокального лазерного сканирующего микроскопа (АСМ-КЛСМ), а также методом флуоресцентной микроскопии с использованием красителя LIVE/DEAD BacLight Kit.

По нашим данным, штаммы *R. cercidiphylli* ИЭГМ 1184 и *R. cerastii* ИЭГМ 1243 в присутствии *n*-гексадекана способны к биодеструкции ибупрофена (свыше 85%) в концентрации 0,01% за 14 и 8 суток соответственно. Предварительная инкубация клеток *R. cercidiphylli* ИЭГМ 1184 в присутствии ибупрофена в качестве единственного источника углерода в течение 5 сут способствовала увеличению скорости деструкции фармполлютанта на 17% (Рис. 1).

Выявлены характерные реакции родококков на воздействие ибупрофена: формирование рыхлых многоклеточных агрегатов, увеличение числа мертвых клеток в культуральной среде, увеличение относительной площади клеточной поверхности родококков.

*Исследование поддержано грантом Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 17-44-590567).*

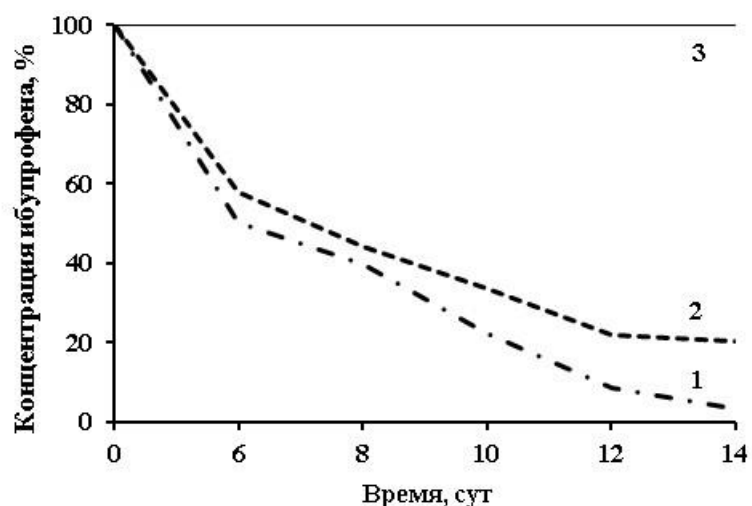


Рисунок. Биодеструкция ибупрофена клетками *R. cercidiphylli* ИЭГМ 1184 (1) прединкубированными в присутствии ибупрофена (0,01%); (2); без прединкубации (3) – абиотический контроль.

### Библиографический список

- [1] Murdoch, R.W. Formation of catechols via removal of acid side chains from ibuprofen and related aromatic acid / R.W. Murdoch, A.G. Hay // *Applied and Environmental Microbiology* – 2005. – V. 71, N. 10. – P. 6121–6125.
- [2] Ivshina, I.B. Current situation and challenges of specialized microbial resource centres in Russia // *Microbiology* – 2012. – V. 81, N. 5 – P. 551–560.
- [3] de Carvalho, C.C.C.R. Membrane transport systems and the biodegradation potential and pathogenicity of genus *Rhodococcus* / C.C.C.R. de Carvalho [et al.] // *Frontiers in Physiology*. – 2014. – V. 5, N. 133. – P. 1–13.
- [4] Marchlewicz, A. Exploring the degradation of ibuprofen by *Bacillus thuringiensis* B1(2015b): The new pathway and factors affecting degradation / A. Marchlewicz [et al.] // *Molecules*. – 2017. – V. 22, N. 10. – P. 1676–1693.

## ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ МОЛЕКУЛАМИ БСА

Баркина И.А., Храмцов П.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., Раев М.Б.**

Современный этап развития биомедицины тесно связан с развитием нанотехнологий. Существует огромное множество разновидностей наноматериалов, обладающих уникальными функциональными свойствами, которые могли бы найти применение в медицине и иммунодиагностике. Особый интерес представляют магнитные наночастицы, которые уже используются для магнитно – резонансной томографии, адресной доставки лекарств [1], а также для научно – исследовательских работ, посвященных освоению методов оценки динамики роста опухолевой или здоровой клеток [2]. Размеры, простота и дешевизна синтеза, устойчивость при хранении – все эти качества способствуют широкому внедрению наночастиц в различные отрасли медицины. Однако, важным недостатком является отсутствие стабильности в растворах без модификации поверхности этих наноносителей. Эта



проблема решается покрытием внешней оболочки магнитных частиц материалами различной природы. Одними из самых многообещающих являются белки из – за их высокой биосовместимости и большой функциональной активности. Такие полимеры защищают сердечник частиц от внешних воздействий, препятствуя их агрегации в растворе, и наделяют дополнительными свойствами за счет собственных функциональных групп.

Данная работа посвящена функционализации поверхности магнитных наночастиц, состоящих из железного ядра и углеродной оболочки, молекулами бычьего сывороточного альбумина. Белки предоставляют функциональные группы, благодаря которым становится возможным ковалентно «пришить» различные биомолекулы, обеспечивающие специфическое взаимодействие с клетками - мишенями. Целью работы является создание нанокомпозитов, которые могут быть использованы в *in vivo* и *in vitro* диагностике, например, основанной на принципе ядерно - магнитного резонанса. Модификация поверхности магнитных наночастиц биополимерами имеет особое значение для применения *in vivo*, поскольку увеличивает их биосовместимость, препятствуя агрегации в различных средах. Если рассматривать применение магнитных наночастиц в ЯМР - анализе, то важным условием является сохранение функционально - структурных свойств магнитных частиц, таких как размеры и релаксивность, после покрытия поверхности полимерами. Использование БСА в этом случае отвечает всем требованиям, предъявляемым к подобным соединениям.

В ходе проведенных исследований была проведена модификация поверхности магнитных наночастицы молекулами БСА. Исследовано влияние различных факторов, таких как рН, ионная сила, концентрация сшивающего агента, на размеры частиц. Произведена оценка релаксивности наночастиц и сорбции белков сыворотки крови на их поверхности, подтверждена коллоидная стабильность полученных нанокомпозитов.

Используемая в экспериментах методика функционализации магнитных наночастиц весьма оперативна, не требует жестких физико-химических условий и специфического, дорогостоящего оборудования, все реакции проводятся в водной среде.

#### **Библиографический список**

1. Dilnawaz F, Singh A, Mohanty C, Sahoo SK: Dual drug loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for targeted cancer therapy. *Biomaterials* 2010; 31: 3694–3706.

2. Yukawa H, Nakagawa S, Yoshizumi Y, Watanabe M, Saito H, Miyamoto Y, Noguchi H, Oishi K, Ono K, Sawada M, Kato I, Onoshima D, Obayashi M, Hayashi Y, Kaji N, Ishikawa T, Hayashi S, Baba Y: Novel positively charged nanoparticle labeling for *in vivo* imaging of adipose tissue-derived stem cells. *PLoS One* 2014.

## **МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ РЕСВЕРАТРОЛА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *ESCHERICHIA COLI* К ЦЕФОТАКСИМУ**

Безматерных К.В., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.

*«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН,  
г. Пермь, Россия*

Для восстановления редокс-баланса, профилактики старения и комплексной терапии различных заболеваний широко используются биодобавки, обладающие антиоксидантными свойствами. Многие из этих биодобавок содержат полифенолы, в частности ресвератрол, которые проявляют цитопротекторные свойства и защищают клетки от повреждения ДНК и апоптоза, индуцированного оксидантами. Предполагается, что в основе их действия лежит антиоксидантная активность, обусловленная способностью нейтрализовать свободные радикалы и хелатировать редокс-активные металлы с переменной валентностью, участвующие в реакции Фентона, а также модулирующее действие на редокс-статус клеток и

активность стрессовых регулонов [1]. При этом концентрация редокс-активных полифенолов в плазме крови не превышает наномолярного уровня, что делает маловероятным их непосредственное участие в прямом антиоксидантном действии. В отличие от клеток млекопитающих, микробиота кишечника, которая является важным метаболическим органом, может прямо контактировать с высокими концентрациями немодифицированных полифенолов и выступать как посредник их влияния на здоровье [2]. Исследования, посвященные воздействию полифенолов на микроорганизмы, связаны в основном с изучением их бактерицидного и мутагенного действия [3]. Недавние работы показали, что некоторые полифенолы способны активировать экспрессию антиоксидантных регулонов и влиять на устойчивость бактерий *E. coli* к окислительному стрессу [4]. Активность стрессовых регулонов может влиять на толерантность бактерий к различным стрессовым факторам, включая действие антибиотиков, что представляет большой теоретический и практический интерес, поскольку может существенно влиять на эффективность антибиотикотерапии.

Цель настоящего исследования заключалась в изучении влияния ресвератрола на толерантность бактерий *Escherichia coli* к цефотаксиму.

Действие ресвератрола было изучено в диапазоне концентраций 1-100 мкг/мл, в качестве растворителя использовался ДМСО. Внесение ресвератрола в среду культивирования вызывало дозозависимое снижение удельной скорости роста ( $\mu$ ) бактерий (на 35% при максимальной дозе 100 мкг/мл). С использованием потенциал-чувствительного флуоресцентного красителя DiBAC<sub>4</sub>(3), мы проследили за изменением мембранного потенциала *E. coli* при внесении 1-100 мкг/мл ресвератрола в среду культивирования. Отрицательно заряженные молекулы красителя не могут проникать в нормальные клетки вследствие отрицательного заряда с внутренней стороны мембраны, поэтому клетки, окрашенные DiBAC<sub>4</sub>(3), можно рассматривать как деполяризованные. Через 10 мин после внесения ДМСО (контрольные условия) количество флуоресцирующих клеток, утративших мембранный потенциал, возрастало в 2 раза с последующим возвращением к исходному уровню в течение 60 мин. Добавление ресвератрола вызывало дополнительное падение мембранного потенциала, которое имело дозозависимый характер. Максимальные изменения по сравнению с контролем наблюдались через 5 мин после внесения 100 мкг/мл ресвератрола, когда количество клеток, утративших мембранный потенциал, возрастало в 3.2 раза. Через 20 мин инкубации доля флуоресцирующих клеток снижалась, но продолжала оставаться повышенной в течение всего времени культивирования.

Цефотаксим относится к классу  $\beta$ -лактамов, мишенью которых является синтез клеточной стенки бактерий. Присутствие ресвератрола слабо влияло на МИК цефотаксима, которая составляла 0.08 мкг/мл. Обработка дозой 40 мкг/мл ресвератрола повышала МИК в 2 раза.

Добавление цефотаксима в растущие культуры *E. coli* вызывало резкое ингибирование скорости роста и лизис клеток через 23 и 18 мин после внесения в среду дозы 5 и 10 мкг/мл соответственно. При этом колониеобразующая способность *E. coli* зависела от концентрации антибиотика и максимально снижалась в 1270 раз через 70 мин экспозиции к 10 мкг/мл цефотаксима.

Предобработка *E. coli* ресвератролом оказывала дозозависимое протекторное влияние на удельную скорость роста и полностью предотвращая лизис, вызываемый антибиотиком.

Ресвератрол также значительно ингибировал бактерицидное действие цефотаксима, повышая способность клеток к образованию колоний. Наиболее выраженный защитный эффект наблюдался при экспозиции бактерий к 10 мкг/мл цефотаксима, когда присутствие 100 мкг/мл ресвератрола повышало КОЕ в 34 раза через 70 мин экспозиции с антибиотиком.

Протекторное воздействие ресвератрола могло быть обусловлено его ингибирующим влиянием на скорость роста бактерий. Известно, что устойчивость к различным классам антибиотиков возрастает при снижении удельной скорости роста [5]. Была выявлена

обратная корреляция между  $\mu$  в момент добавления цефотаксима и колониеобразующей способностью бактерий ( $r = -0.86$ ,  $p < 0.05$ ).

Также известно, что ресвератрол и некоторые другие полифенолы обратимо связываются с субъединицами домена F<sub>1</sub> АТФ-синтазы *E. coli*. В зависимости от строения молекулы полифенола это приводит к частичному или полному ингибированию активности комплекса. Результатом этих событий может быть ингибирование дыхания и наблюдаемое нами снижение мембранного потенциала в культурах, обработанных ресвератролом и, как следствие, повышение устойчивости *E. coli* к цефотаксиму.

Полученные результаты вносят вклад в решение актуальной фундаментальной проблемы, связанной с изучением механизмов фенотипической устойчивости бактерий к действию бактерицидных антибиотиков и требуют дальнейшего изучения.

Работа выполнена в соответствии с государственным заданием 01201353249 и поддержана грантами РФФИ 19-04-00888 и Президента РФ МК-3376.2018.4.

#### Библиографический список

1. López-Alarcón, C. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays / C. López-Alarcón, A. Denicola // *Anal. Chim. Acta.* – 2013. – V. 763. – P. 1-10.
2. Espín J.C. The gut microbiota: A key factor in the therapeutic effects of (poly)phenols / J.C. Espín, A. González-Sarriás, F.A. Tomás-Barberán // *Biochem. Pharmacol.* – 2017. – V. 139. – P. 82-93.
3. Тараховский, Ю.С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю.С. Тараховский, Ю.А. Ким, Б.С. Абдрасилов, Е.Н. Музафаров // Пушино: Synchronbook, 2013. – 310 с.
4. Samoilova, Z. Medicinal plant extracts variously modulate susceptibility of *Escherichia coli* to different antibiotics / Z. Samoilova [et al.] // *Microbiol. Res.* – 2014. – V. 169(4). – P. 307-313.
5. Smirnova, G. Roles of the glutathione- and thioredoxin-dependent systems in the *Escherichia coli* responses to ciprofloxacin and ampicillin / G. Smirnova [et al.] // *Arch. Microbiology.* – 2016. – V. 198(9). – P. 913-921.

## ПРИМЕНЕНИЕ ИНДЕКСА КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ КИШЕЧНОГО МИКРОБОЦЕНОЗА У СЛУЖЕБНЫХ СОБАК ПОРОДЫ БЕЛЬГИЙСКАЯ ОВЧАРКА (МАЛИНУА)

Богуш Е.В.

*Пермский военный институт войск национальной гвардии, г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: доцент, к.б.н., Крылова И.О.**

Служебное животное является спецсредством, которое применяет специалист-кинолог войск национальной гвардии при выполнении служебно-боевых задач. Исходя из основных задач кинологической службы [1] - здоровьесбережение служебных собак является одним из важных аспектов, направленных на сохранение служебного поголовья. В настоящее время не вызывает сомнений необходимость быстрых способов оценки состояния естественных барьеров колонизации биотопов живого организма, формируемых на пути инфекционного агента.

Исследование проведено в рамках НИР кафедры биологии факультета (кинологического) Пермского военного института войск национальной гвардии Российской

Федерации по заявке Центрального аппарата войск национальной гвардии Российской Федерации №34/3706 от 8.05.2018 г.

Цель исследования: с применением индекса колонизационной резистентности (ИКР) изучить особенности микробиоценоза желудочно-кишечного тракта служебных собак бельгийской овчарки (малинуа).

Для достижения цели исследования проанализированы экспериментальные данные по служебным собакам породы бельгийская овчарка (8 голов) по этапам:

I этап (12.2017 г. – 03.2018 г.): прибытие щенков, карантинные мероприятия, натуральное кормление, контроль микрофлоры;

II этап (05.2018 г. – 08.2018 г.): кормление полнорационным сухим кормом Royal Canin (Professional Maxi Junior), контроль микрофлоры;

III этап (08.18 г. – 02.19 г.): натуральное кормление; контроль микрофлоры.

Комплексный микробиологический анализ кала проводился согласно Методическим рекомендациям [3]. ИКР рассчитывали согласно методики [4]. Статистическая обработка данных в Microsoft Excel и STADIA 6.2.

Комплексный бактериальный анализ соотношения нормальной и условно-патогенной (и патогенной) микрофлоры проводили с использованием расчетных данных ИКР (рис).

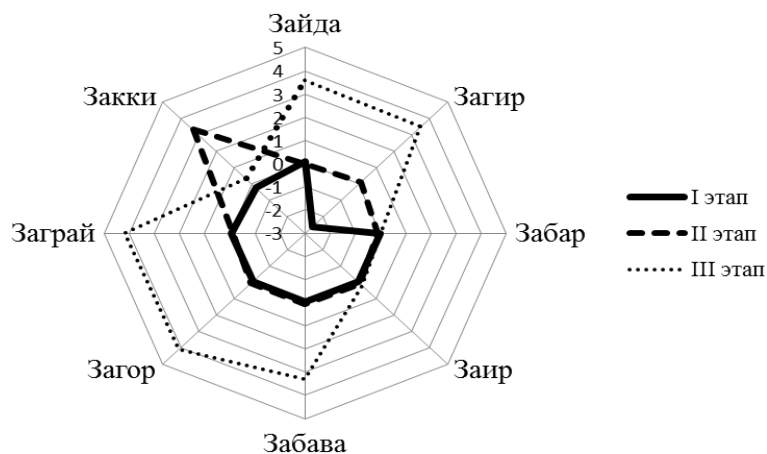


Рисунок. Динамические изменения ИКР полостной микрофлоры кишечника служебных собак помета «С»

Бактериальный скрининг полосной микрофлоры ЖКТ анализируемой выборки на первом этапе выявил: частота встречаемости представителей нормальной микрофлоры составила 25,76% от общего количества микроорганизмов. Биоразнообразие представлено споровыми анаэробами (50%) и бифидобактериями (62,5%). Лактобактерии во всех пробах отсутствовали. Условно-патогенные микроорганизмы представлены бактериями семейств: *Enterococcaceae* (род *Enterococcus*: *E. faecium* (100%), *E. faecalis* (62,5%); *Streptococcaceae* (род *Streptococcus*); *Staphylococcaceae* (род *Staphylococcus* - 12,5%). Все изоляты бактерий, относятся к IV группе патогенности – условно-патогенные микроорганизмы [5]. Патогенные микроорганизмы представлены токсигенными клостридиями (50% положительных проб) - III группа патогенности. Энтеробактерии рода *Salmonella* и *Escherichia* не выявлены. ИКД в 87,5% случаев характеризовался отрицательными значениями (рис). Известно, что в результате снижения колонизационной резистентности биотопа создаются благоприятные условия для активизации патогенной микрофлоры [2]. По факту проявления диарейной симптоматики проведена коррекция рационов питания служебных животных помета «С» и назначено лечение, включающее применение антибиотиков и пребиотиков.

Контроль микрофлоры кишечника служебного поголовья после мероприятий по лечению и восстановлению микробиоценоза ЖКТ собак выявил повышение количества бактерий рода *Bifidobacillus*. На фоне смены рационов, бактериологическим исследованием в отобранном материале выявлен дисбактериоз, характеризующийся отсутствием

лактобактерий. Вместе с тем у 80% анализируемой выборки была выявлена условно патогенная микрофлора в виде бактерий рода *Enterococcus*. ИКР в 25% случаев характеризовался отрицательными значениями (рис).

Третий этап исследований показал, что 50% анализируемой выборки характеризовались нормативными показателями по наличию нормальной микрофлоры. Наблюдался относительный баланс по количеству лакто- и бифидобактерий. Условно-патогенная и патогенная микрофлора во всех пробах отсутствовала. ИКР в 100% случаев характеризовался положительными значениями (рис), что свидетельствует о положительной динамике восстановления микробиоценоза кишечника.

Таким образом, в исследовании показано, что микрофлора желудочно-кишечного тракта имеет огромное значение в формировании колонизационной резистентности. Зная основные закономерности и значение формирования неспецифической резистентности организма собак, специалист-кинолог может разрабатывать и осуществлять мероприятия по профилактике заболеваний.

### **Библиографический список**

1. Приказ Федеральной службы войск национальной гвардии РФ от 25 февраля 2019 г. № 60 «Об утверждении Временного наставления по кинологической службе войск национальной гвардии Российской Федерации».
2. Колонизационная резистентность организма в измененных условиях обитания /В.К. Ильин, А.И. Воложин, Г.В. Виха; Ин-т мед.-биол. Проблем. – М.: Наука, 2005. – 276 с.
3. Методические рекомендации «Выделение и идентификация бактерий желудочно-кишечного тракта животных», утвержденные 11.05.2004 г. Департаментом Ветеринарии Министерства сельского хозяйства Российской Федерации.
4. Патент RU 2381504 Авторы: Горелов А. В., Плоскирева А. А. Федеральное государственное учреждение науки Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора РФ.
5. СанПиН 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности).

## **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК РОДОКОККОВ С ЭЛЕКТРОДНЫМ МАТЕРИАЛОМ НА ОСНОВЕ ПЛАТИНЫ И РУТЕНИЯ, ПОЛУЧЕННЫМ МЕТОДОМ ВЫСОКОСКОРОСТНОГО ЛАЗЕРНОГО СИНТЕЗА**

Вахрушева Е.В., Соломенникова А.А., Писарева Т.А.

*ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск, Россия*

**Научные руководители: доцент, к.б.н. Черенков И.А., профессор, д.т.н. Харанжевский Е.В.**

Электрохимические методы находят широкое применение в микробиологии. Показана возможность оценки состояния микробной культуры по электрохимическим показателям – анализу вольтамперограмм циклической вольтамперометрии (ЦВА) [1]. Такой подход дает возможность мониторинга состояния клеток в условиях эксперимента или микробиологического производства. Характеристики химических сенсоров во многом определяются свойствами электродного материала. Перспективно внедрение в биотехнологию материалов, полученных методами высокоскоростного лазерного синтеза (ВЛС). ВЛС позволяет сформировать развитую поверхность для адсорбции клеток, и создавать каталитически активные центры, реагирующие на клеточную активность и преобразующие сигнал в показатели силы тока без использования электрохимических медиаторов. Родоккокки в качестве биокомпонента электрохимических систем используются

крайне ограничено [2-4]. Однако данная группа микроорганизмов имеет большие перспективы применения в области экологии и биомедицины [5,6], и электрохимические сенсоры могут оказаться полезными для мониторинга жизнедеятельности клеток.

Целью нашей работы стало исследование взаимодействия клеток актинобактерий рода *Rhodococcus* с электродным материалом, содержащим платину и рутений, полученным методом высокоскоростного лазерного синтеза.

Для изготовления электродов использовали планарную электродную систему. На поверхность графитового рабочего электрода наносили растворы солей рутения и платины. После высушивания электроды обрабатывали оптоволоконным лазером на воздухе в импульсном режиме. Поверхность электродов исследовали с помощью сканирующего электронного микроскопа. Взвесь клеток родококков в фосфатно-солевом буферном растворе (ФСБ) наносили на поверхность рабочего электрода и оставляли во влажной камере для адсорбции. Электрохимические измерения осуществляли на потенциостате-микроамперметре «ЭкоЛаб-2А». Фоновым электролитом служил ФСБ.

При ВЛС на поверхности электрода формируется развитая электропроводная поверхность, содержащая графит, соединения платины и рутения (рис. 1).

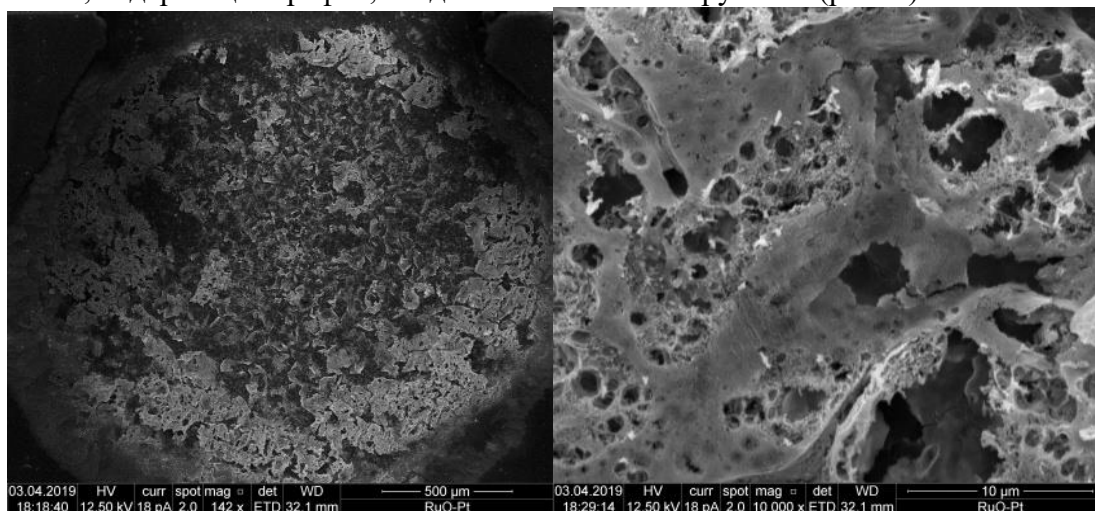


Рис. 1. Поверхность электрода после лазерной обработки.

При ЦВА, электроды демонстрируют воспроизводимые характеристики в диапазоне потенциалов от +1000 до -1000 мВ. ВЛС приводит к росту емкостных токов, что сопровождается увеличением разности токов при прямой и обратной развертке потенциала. В области + 500 мВ формируется восстановительный пик (рис. 2).

Адсорбция клеток изменяет вольтамперные характеристики электродов: снижаются емкостные токи, происходит вырождение восстановительного пика. Изменения вольтамперных кривых зависят от состояния культуры. Наиболее выраженное падение емкости вызывают клетки после 20-ти дней хранения при +4°C (рис. 2). При нанесении взвеси таких клеток на электрод, на ЦВА формируется пик окисления в области -570 мВ не характерный для бесклеточной системы и для 5-суточной культуры, что позволяет предполагать наличие переноса заряда в системе «клетка-электрод», механизмы которого нуждаются в дальнейшем исследовании. Одним из факторов изменения вольтамперных характеристик ЦВА адсорбированными родококками может быть влияние биосурфактантов (БС), выделяемых клетками. БС связываются с поверхностью электрода десольватируя ее, что и приводит к падению емкостных токов [7]. Способность БС родококков хелатировать ионы тяжелых металлов [8] может служить основой взаимодействия с электродной поверхностью – компоненты электродного материала могут выступать в качестве металлоцентров.

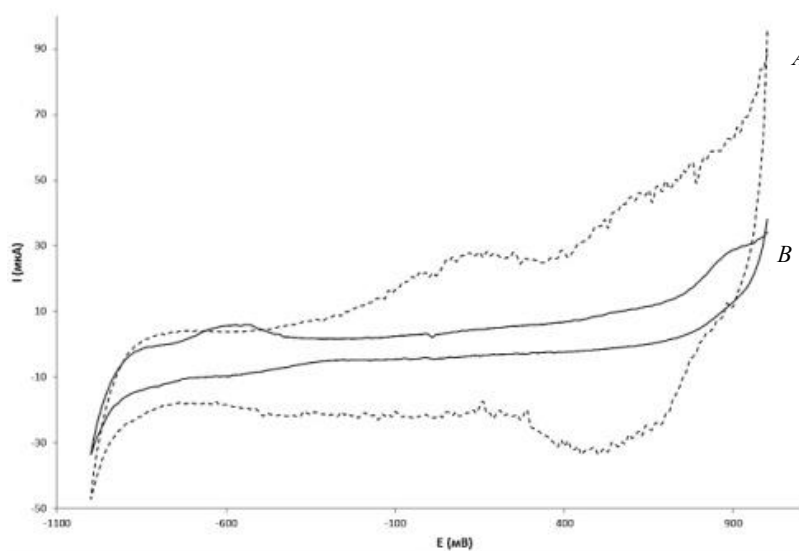


Рис. 2. Вольтамперные кривые ЦВА. *A* – бесклеточная система; *B* – клетки родококков после 20-дневного хранения

### Библиографический список

1. In-situ electrochemical analysis of microbial activity / A. L.Martin, P. Satjaritanun, S. Shimpalee [et al.] // *AMB Express*. 2018. Vol. 8, № 1. P. 162-172.
2. Электрохимическая оценка метаболической активности клеток родококков, иммобилизованных на планарном графитовом электроде / И. А. Черенков, Т. Н. Кропачева, Е. А. Перевозчиков [и др.] // *Технологии живых систем*. 2015. Т. 12, № 2. С. 12-19.
3. Никашина А.А., Пурьгин П.П., Решетиллов А.Н. Биосенсоры для экологического контроля // *Известия Самарского научного центра РАН*. 2009. Т. 11, № 1(6). С. 1355-1358.
4. Development of a conductimetric biosensor using immobilised *Rhodococcus ruber* whole cells for the detection and quantification of acrylonitrile / P. C. J. Roach, D. K. Ramsden, J. Hughes, [et al.] // *Biosens. Bioelectron*. 2003. № 19. P. 73-78.
5. Консорциум иммобилизованных родококков для очистки нефтепромысловой воды в колоночном биореакторе /М.К. Серебренникова, Е.Э. Головина, М.С. Куюкина [и др.] // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2017. Т. 53, № 4. С. 380-386.
6. Эффективные биокатализаторы для получения фармакологически активных соединений из природных стеролов / Е.М. Ноговицина, Г.А. Бажутин, В.В. Гришко [и др.] // *Вестник Пермского научного центра*. 2016. № 4. С. 57-62.
7. Хенце Г. Полярография и вольтамперометрия. М.: Бинوم «Лаборатория знаний» 2010. 284 с.
8. Ившина И.Б., Куюкина М.С., Костина В.Л. Адаптационные механизмы неспецифической устойчивости алканотрофных актинобактерий к ионам тяжелых металлов // *Экология*. 2013. № 2. С. 115-123.

# ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ И ПРОБИОТИКОВ В ОТНОШЕНИИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Володченко В.Ф.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», г. Оренбург, Россия

Научный руководитель: д.б.н., доцент Карпова Г.В.

В последнее время антибиотикорезистентность стала проблемой номер один в фармакологической промышленности, занимающейся разработкой противомикробных препаратов. Такие распространенные патогенные микроорганизмы, как стафилококки, кишечная и синегнойная палочка, протеи имеют устойчивые штаммы, которые распространены более своих предков, подверженных воздействию антибиотиков [1].

Необходимость одновременного использования пробиотиков с большинством применяемых в клинической практике антимикробных препаратов в настоящий момент является предметом дискуссии, поскольку пробиотические микроорганизмы чувствительны ко многим антибиотикам. Данные по антибиотикорезистентности необходимо обязательно учитывать при отборе штаммов для конструирования препаратов-пробиотиков [2]. При необходимости антибактериальной терапии рекомендуется совместное использование с антибиотиками пробиотиков. И в такой ситуации принципиально важно чтобы штаммы, входящие в состав пробиотика были устойчивыми к выбранному антибиотику. Совместное применение пары антибиотика с пробиотиком может не только предупредить развитие дисбиоза, но и усилить эффект подавления патогенной и условно-патогенной микрофлоры, путем выработки пробиотическими штаммами микроорганизмов антибиотикоподобных веществ, которые оказывают влияние на другую мишень действия [3]. В этом случае можно наблюдать явление синергизма (или аддитивность), когда происходит суммация антагонистического действия антибиотиков и пробиотиков, что имеет большую практическую значимость. Также можно зарегистрировать либо негативный эффект (антагонизм), когда антибиотикоподобные вещества, вырабатываемые бактериями, могут блокировать мишени действия антибиотиков, либо отсутствие какого-либо эффекта [4]. В связи с этим, учитывая результаты определения антибиотикоустойчивости исследуемых микроорганизмов к антибиотикам, нами был проведен опыт по определению эффективности совместного действия антибиотиков и пробиотиков на грамотрицательные микроорганизмы. Сочетанное использование антибиотиков и пробиотиков в одном случае приводит к негативному эффекту, в другом к положительному результату, а в третьем случае нейтрально [5].

Материалы и методы В ходе исследования использовались пробиотические штаммы (*B. subtilis* 534, *B. Subtilis* 10641, *B. amyloliquefaciens* 10642, *B. amyloliquefaciens* 10643 *B. cereus* 5832), тест-организмы (*E. coli* М-17, *S. enteritidis*), а также антибиотики (метронидазол, цефепим, ампициллин, доксициклин). Методы, используемые в исследовании: метод тест-систем «Bio Merieux», метод диффузии в агар, метод серийных разведений.

Результаты и обсуждение В ходе исследования совместного применения антибиотиков и пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* в отношении тест-организма *S. enteritidis* было установлено, что метронидазол в паре с *B. subtilis* 10641 и *B. amyloliquefaciens* 10643 приводит к усилению действия антибиотика, в то время как совместное действие с *B. amyloliquefaciens* 10642 ведет к негативному эффекту. Цефепим со всеми пробиотическими штаммами, кроме *B. amyloliquefaciens* 10642 проявил аддитивный эффект, в последнем случае наблюдалось негативное проявление. Результаты, полученные при совместном действии ампициллина с *B. subtilis* 10641, а также *B. cereus* 5832 в



отношении *S. enteritidis*, позволяют говорить о том, что наблюдался аддитивный эффект, при исследовании пары ампициллин и *B. subtilis* 534 было установлено негативный эффект. Совместное действие пары доксициллин и *B. subtilis* 10641 приводит к негативному эффекту, в остальных вариантах пар антибиотика и исследуемых пробиотических штаммов не наблюдается никакого эффекта.

В ходе исследования совместного применения антибиотиков и пробиотических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* в отношении тест-организма *E. coli* было установлено, что метронидазол в паре со всеми исследуемыми пробиотическими штаммами не приводит к какому-либо эффекту. Цефепим со всеми исследуемыми штаммами, кроме *B. cereus* IP 5832 не проявил никакого эффекта, в последнем случае наблюдался аддитивный эффект. Пары ампициллин с *B. subtilis* 10641, *B. amyloliquefaciens* 10642, а также с *B. cereus* IP 5832 проявили аддитивный эффект относительно *E. coli*. При исследовании совместного действия пары доксициллин и *B. subtilis* 534, а также *B. subtilis* 10641 был установлен аддитивный эффект. Пара доксициллин и *B. amyloliquefaciens* 10642, а также *B. amyloliquefaciens* 10643 напротив привели к негативному.

Полученные научные данные подтверждают эффективность совместного использования антибиотиков и пробиотиков. А именно, что сочетанное применение антибиотика с пробиотиком может не только предотвратить развитие дисбиоза, но и усилить эффект подавления грамотрицательной микрофлоры путем выработки пробиотиком антибиотикоподобных веществ, которые оказывают влияние на другую мишень действия. В ходе исследования установлен аддитивный эффект в отношении *E. coli* M-17 в парах антибиотик и пробиотик: *B. subtilis* 534 и доксициллин; *B. subtilis* 10641 доксициллин и ампициллин; *B. amyloliquefaciens* 10642 и ампициллин; *B. cereus* IP 5832 цефепим, а также ампициллин. Комплексами эффективными в отношении *S. enteritidis* оказались: *B. subtilis* 10641, *B. amyloliquefaciens* 10643 с метронидазолом, а также цефепимом; *B. subtilis* 10641 и ампициллин; *B. cereus* 5832 и цефепим, а также ампициллин.

### Библиографический список

1 Косинец, А.Н. Антибиотикорезистентность. Новые возможности антибактериального воздействия/ А.Н. Косинец [и др.] // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2014. – № 13. – С. 49-53.

2 Червинец, Ю.В. Нарушения микробиоты желудочно-кишечного тракта здоровых людей / Ю.В. Червинец [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – Т. 2013. – № 3. – С. 54-57.

3 Новик, Г.И. Биологическая активность микроорганизмов-пробиотиков / Г.И. Новик [и др.] // Журнал прикладная биохимия и микробиология. – 2006. – Т. 42. – № 2. – С. 187-194.

4 Ершова, И.Б. Актуальные вопросы совместного применения антибактериальных препаратов и пробиотиков / И.Б. Ершова [и др.] // Актуальная инфектология. – 2015. – № 3. – С. 24-26.

5 Карпова Г.В., Оценка эффективности совместного применения антибиотиков и пробиотиков в условиях *in vitro* / Карпова Г.В., Сизенцов А.Н., Володченко В.Ф., Тимофеева А.А. // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 3. С. 134.

# СИЛИКАТНЫЕ БАКТЕРИИ СПОСОБНЫ СТИМУЛИРОВАТЬ РОСТ РАСТЕНИЙ

Воропаева О.В., Седяева О.В., Малева М.Г., Борисова Г.Г.

ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Получение экологически безопасных продуктов питания является одной из глобальных задач. Использование синтетических удобрений повышает пищевые и экологические риски. Однако отказ от их применения неизбежно приведёт к резкому снижению производства сельскохозяйственной продукции. Поэтому в настоящее время особую актуальность приобретает поиск микроорганизмов для разработки экологически безопасных и экономически эффективных биопрепаратов, способствующих увеличению почвенного плодородия и получению высоких и устойчивых урожаев агрокультур.

Одной из альтернатив химическим удобрениям является использование биопрепаратов на основе ризосферных силикатных бактерий, которые способны к солюбилизации не только силикатов, но и соединений калия, имеющего важное физиологическое значение. Это может привести к улучшению питательного режима и микробиологической активности почв, а, следовательно, будет способствовать росту и развитию растений. Морфология и экология данной группы микроорганизмов достаточно хорошо изучены, однако физиолого-биохимические аспекты их жизнедеятельности требуют углубленных исследований.

К настоящему времени накоплены данные, свидетельствующие об усилении потребления калия и других элементов питания, а также увеличении высоты растений, количества листьев, биомассы побегов и корней при инокуляции почвы силикатными бактериями [1, 2]. Положительные эффекты их действия на растения были подтверждены нашими исследованиями по оценке влияния биопрепарата, обогащенного выделенной из глинистых минералов культурой *Bacillus sp.*, на структурно-функциональные параметры фотосинтетического аппарата *Brassica juncea* (L.) Czern. [3]. Было показано, что его добавление в глинистую почву значительно увеличивало потребление растениями азота, фосфора и калия. Толщина и количество клеток мезофилла возрастали в среднем на 24 %, что коррелировало с увеличением содержания хлорофилла и каротиноидов и поглощения CO<sub>2</sub> (в 1,5–2 раза). В связи с этим представляется целесообразным выявление физиолого-биохимических особенностей выделенного штамма силикатных бактерий, способствующих усилению роста растений и улучшению их фотосинтетической функции.

Цель исследования – тестирование силикатных бактерий на способность к стимулированию роста растений, за счет образования аммонийного азота путем фиксации атмосферного и разложения азотсодержащих органических соединений, синтеза индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) и солюбилизации фосфатов.

Для определения способности выделенного штамма к фиксации атмосферного азота культуру бактерий выращивали на питательной среде Зака, без внесения в среду источника азота. После инкубирования в течение трех суток бактериальную культуру центрифугировали для получения культуральной жидкости, в которой фиксировали наличие аммонийного азота (реакция с реактивом Несслера). Способность силикатных бактерий к разложению азотсодержащих органических веществ до аммонийного азота выявляли также в культуральной жидкости с помощью реактива Несслера после их культивирования на среде следующего состава: пептон – 10 г, NaCl – 5 г, H<sub>2</sub>O<sub>дист.</sub> – 1 л. Для определения способности выделенного штамма к солюбилизации фосфатов бактерии инкубировали на жидкой среде NBRIP в течение 10 суток. В качестве контроля была использована среда NBRIP без добавления бактерий. Количество доступных форм фосфора определяли спектрофотометрически при длине волны 420 нм после реакции с ванадиево-молибденовым реагентом. В качестве стандарта для построения калибровочной кривой использовали

растворимую форму фосфата  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  [4]. Оценку способности исследуемого штамма синтезировать ИУК из ее предшественника (*L*-триптофана) проводили в культуральной жидкости. Для этого силикатные бактерии культивировали на среде LB с добавлением *L*-триптофана при постоянном перемешивании. После 5 суток инкубирования бактерий в супернатант был добавлен реактив Сальковского. Концентрацию ИУК измеряли на спектрофотометре при 530 нм [5]. В качестве стандарта использовали ИУК (“Sigma-Aldrich”, США).

В результате тестирования выделенного штамма на свойства, потенциально способствующие росту растений, установлено, что бактерии фиксируют атмосферный азот в количестве, достаточном для роста и размножения их клеток. Кроме того, часть фиксированного молекулярного азота была обнаружена и в культуральной жидкости, что может в дальнейшем служить дополнительным источником доступного азота для растений. Доказана также способность данного штамма силикатных бактерий к разложению азотсодержащих органических веществ до аммонийного азота. Установлено, что они могут солубилизовать фосфаты: при росте на жидкой питательной среде в раствор было переведено 0,14 г/л  $\text{PO}_4^{3-}$ . При тестировании на способность к синтезу ИУК из *L*-триптофана было обнаружено, что силикатные бактерии за 3-е суток способны продуцировать ИУК в количестве 11,4 мг/л. Синтез силикатными бактериями регуляторов роста растений может способствовать более активному развитию корней, а, следовательно, улучшать поглощение воды и питательных веществ из почвы.

Проведенное исследование позволяет сделать вывод, что выделенный нами штамм силикатных бактерий можно отнести к микроорганизмам, стимулирующим рост растений, не только из-за способности солубилизовать калий глинистых минералов, но и благодаря таким свойствам, как фиксация молекулярного азота, разложение азотсодержащих органических соединений, солубилизация фосфатов, а также синтез ИУК из *L*-триптофана. Создание и использование биопрепаратов на основе выделенных силикатных ризобактерий в качестве альтернативы синтетическим удобрениям может способствовать развитию экономически эффективных и экологически безопасных агробιοтехнологий.

#### **Библиографический список**

1. Han H.S., Lee K.D. Phosphate and potassium solubilizing bacteria effect on mineral uptake, soil availability and growth of eggplant // Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. 2005. V. 1(2). P. 176–180.
2. Zhang C., Kong F. Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from tobacco rhizospheric soil and their effect on tobacco plants // Soil Ecology. 2014. V. 82. P. 18–25.
3. Maleva M., Borisova G., Koshcheeva O., Sinenko O. Biofertilizer based on silicate solubilizing bacteria improves photosynthetic function of *Brassica juncea* // AGROFOR International Journal. 2017. V. 2(3). P. 13–19.
4. Ribeiro C.M., Cardoso E.J. Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil Pine (*Araucaria angustifolia*) // Microbiological Research. 2012. V. 167(2). P. 69–78.
5. Bric J.M., Bostock R.M., Silverstone S.E. Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane // Applied and Environmental Microbiology. 1991. V. 57(2). P. 535–538.

# НЕКОТОРЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОДОКОККИ

Голышева А.А., Тищенко А.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: академик РАН, профессор, д.б.н. Ившина И.Б.**

В последнее время на фоне антропогенного и техногенного загрязнения окружающей среды важное значение приобретают работы по инактивации тяжелых металлов – особо опасных для живых организмов эмерджентных поллютантов.

Основные источники загрязнения сточных вод ТМ – горнодобывающие и нефтеперерабатывающие предприятия. В меньших объемах ТМ попадают в сточные воды от предприятий легкой промышленности. В отличие от органических загрязнителей, ТМ не подвергаются процессам разложения, а перераспределяются между отдельными компонентами природной окружающей среды [1]. Применяемые технологии очистки сточных вод основаны на применении агрессивных реагентов в химико-технологических процессах. Другие методы (сжигание, высокотемпературная экстракция, промывание, окислительно-восстановительные реакции) являются дорогостоящими и не гарантируют полное удаление ТМ [2]. Наиболее безопасными признаны биологические методы очистки сточных вод, в частности, биоаккумуляция ТМ микробными клетками. Непатогенные актинобактерии – одна из наиболее перспективных групп микроорганизмов для использования в биотехнологических процессах очистки сточных вод, загрязненных ТМ. Их характерной чертой является способность к утилизации широкого спектра органических соединений, а также высокая устойчивость к воздействию ТМ [3].

Цель настоящей работы – исследование адаптивных реакций родококков в ответ на воздействие ионов ТМ.

Материалы и методы

В работе использовали штамм *Rhodococcus cerastii* ИЭГМ 1278, поддерживаемый в Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним коллекции ИЭГМ, WDCM #768, [www.iegmc.ru](http://www.iegmc.ru); реестровый номер Уникальной научной установки 73559) и выделенный ранее из нефтезагрязненной почвы. Родококки предварительно выращивали на мясопептонном агаре в течение 48 ч. Жизнеспособность и морфометрические параметры бактериальных клеток изучали в условиях их культивирования в (1) мясопептонном бульоне (МПБ) и (2) жидкой минеральной среде с *n*-гексадеканом (C<sub>16</sub>) в качестве единственного источника углерода. Физиологическое состояние культур контролировали по изменению оптической плотности клеточной суспензии. Оптическую плотность (ОП<sub>600</sub>) измеряли спектрофотометрически (λ=600 нм) с помощью спектрофотометра Lambda EZ 201 UV/VIS (Perkin-Elmer, США).

В работе использовали соли ТМ: CuSO<sub>4</sub> × 5H<sub>2</sub>O, (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Cd × 2H<sub>2</sub>O, K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> × 4H<sub>2</sub>O, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, ZnSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O в концентрации от 0,08 до 80,00 мМ. Устойчивость родококков к ТМ оценивали с использованием показателя минимальной ингибирующей концентрации, определяемого микролуночным методом [4]. Жизнеспособность бактериальных клеток определяли методом «Live/Dead» с помощью флуоресцирующего микроскопа Micros 400 (Австрия), а также красителем йоднитротетразолия хлорида (0,2% водный раствор). Данный краситель действует в качестве конкурентного кислороду акцептора электронов в электрон-транспортной цепи аэробных организмов [5].

Неповрежденные клетки краситель «Live/Dead» окрашивал в зеленый, мертвые – красный, живые клетки с поврежденными клеточными стенками – оранжевый цвет.

Препараты просматривали в свете ртутной лампы с помощью 100х объектива с использованием нефлуоресцирующего иммерсионного масла.

Морфометрические параметры клеток изучали с помощью светового фазово-контрастного микроскопа «Axiostar plus» Carl Zeiss (Германия). Микроскопирование проводили с помощью 100х объектива с использованием иммерсионного масла. Измерение размеров бактериальных клеток проводили с помощью пакета компьютерных программ «ВидеоТест-Размер 5.0». Все эксперименты проводили в 3–5-кратной повторности.

Результаты исследования

Штамм *Rhodococcus cerastii* ИЭГМ 1278 проявлял способность к росту в присутствии ионов ТМ. При этом устойчивость родококков варьировала от 0,31 до 80,00 мМ. ТМ по степени их токсичности на бактериальные клетки можно распределить в ряд:  $Cd^{2+}$  (0,31) >  $Pb^{2+}$  (5,00) >  $MoO_4^{2-}$  (10,00) >  $Cu^{2+}$  (10,00) >  $Zn^{2+}$  (40,00) >  $CrO_4^{2-}$  (80,00 мМ), в котором наименее токсичен хром, более токсичен – кадмий.

При исследовании жизнеспособности бактериальных клеток установлено, что в условиях загрязнения среды культивирования ионами  $CrO_4^{2-}$ ,  $Cu^{2+}$  и  $MoO_4^{2-}$  клетки сохраняли высокую (92–100%) жизнеспособность. В условиях загрязнения среды ионами  $Zn^{2+}$  (как при культивировании в МПБ, так и углеводородсодержащей минеральной среде) наблюдалась низкая (0,119 ед. оп. пл.) ОП бактериальных клеток и повышенное число (до 19%) мертвых клеток. Обнаружено увеличение (в 4–5 раз) степени устойчивости к солям ТМ при росте родококков в минеральной среде с *n*-гексадеканом по сравнению с образцами, полученными после выращивания в МПБ. Данная закономерность не зависит от ионов ТМ, входящих в состав питательных сред.

При культивировании родококков в среде, загрязненной медью и свинцом, наблюдалось уменьшение (в 1,7–4,0 раз) размера бактериальных клеток, при этом их жизнеспособность сохранялась на уровне 93%. Данная особенность связана с проявлением адаптации родококков к среде, загрязненной ионами  $Cu^{2+}$  и  $Pb^{2+}$ . Влияние среды культивирования на морфометрические параметры не выявлено. Существенное изменение размеров бактериальных клеток связано с воздействием на клетки конкретных ТМ.

*Работа выполнена в рамках госзадания 01201353247 и при поддержке гранта РФФИ 18-29-05-006.*

#### Библиографический список

1. Фрумин П.Т. Экологическая химия и экологическая токсикология СПб.: РГГМУ. 2013. – 179 с.
2. Gan S., Lau E.V., Ng H.K. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) // *Journal of Hazardous Materials*. 2009. V. 172. P. 532–549.
3. Ившина И.Б., Каменских Т.Н., Анохин Б.А. Адаптационные механизмы выживания алканотрофных родококков, реализованные в неблагоприятных условиях среды // *Вестник Пермского университета. Серия Биология*. 2007. Вып. 5 (10). С. 113–116.
4. Bell J.M.L., Philp J.C., Kuyukina M.S., Ivshina I.B., Dunbar S.A., Cunningham C.J., Anderson P. Methods evaluating vanadium tolerance in bacteria isolated from crude oil contaminated land // *Journal of Microbiological Methods*. 2004. V. 58. P. 87–100.
5. Packard T.T. The measurement of respiratory electron-transport activity in marine phytoplankton // *Journal of Marine Research*. 1971. V. 29. P. 235–244.

# БИОРЕМЕДИАЦИЯ НЕФТЕЗЯГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ, ОТОБРАННЫХ В ДОЛИНЕ РЕКИ ЯСЫЛ, В МОДЕЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Данилова А.А.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Егорова Д.О.**

Загрязнение почвы нефтепродуктами — одна из наиболее актуальных проблем окружающей среды. Негативное влияние нефти на почву проявляется в значительном изменении морфологических, физико-химических и микробиологических свойств почв. Что бы не допустить полной деградации почвенного покрова в районе нефтяного загрязнения применяются различные методы его восстановления. Из многочисленных методов, которые позволяют уменьшить концентрацию нефтепродуктов в почве, наиболее перспективными являются биологические методы или биоремедиация. [5]. В данном исследовании проводился эксперимент по биоремедиации в модельных условиях. Для него была выбрана почва из долины реки Ясыл, которая была подвержена нефтяному загрязнению в течение длительного времени, в результате чего она утратила свои свойства. Для очистки почвы применялись методы фиторемедиации (внесение семян), биоаугментации (внесение микроорганизмов-деструкторов *Rhodococcus wratislaviensis*) и сочетание этих методов (биостимуляция) [3,5].

Образец почвы был отобран с территории Кокуйского месторождения нефти и газа в долине реки Ясыл на пробной площадке №2 (ПП15) [4].

На этом образце почвы был поставлен эксперимент по биоремедиации с применением штамма-деструктора *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7 и семян клевера ползучего (*Trifolium repens*). Образец почвы был разделен и обработан в следующей вариации: 1 – влажный контроль (10 мл физраствора); 2 – 10 мл культуры штамма КТ-112-7; 3 – 30 семян клевера ползучего; 4 – 10 мл штамма КТ 112-7 и 30 семян клевера; 5 – сухой контроль; 5- сухой контроль.

Второй этап после завершения очистки образца почвы от нефтепродуктов — определение ее химического состава и наличие нефтепродуктов с применением метода газовой хроматографии. Количественное содержание нефтепродуктов и других соединений оценивали на основании сравнения величины полученных пиков исследуемых соединений [1,2].

При проведении посевов микроорганизмов из почвенного раствора образца были получены следующие результаты. По данным таблицы 1 видно, что количество гетеротрофных микроорганизмов после проведения биоремедиации увеличилось на один порядок. Число нефтеокисляющих бактерий также выросло. Стоит отметить что в процессе биоремедиации увеличилось видовое разнообразие культивируемых бактерий. По-видимому, изучаемый образец почвы в наибольшей степени очистился от нефтепродуктов, что позволило естественной микрофлоре почвы развиваться и расти. Из этого можно сделать вывод о том, что почвенный образец начал стадию своего восстановления до естественного состояния.

Рассматривая результаты вариантов образца почвы (табл.2) после проведения биоремедиации, можно сделать вывод о том, что применение штамма-деструктора КТ 112-7 наиболее эффективно для восстановления данного почвенного образца. Также эффективным оказалось применение одновременно штамма и семян клевера. Наименее эффективным было использование только семян клевера. При этом, как говорилось выше, произошло изменение в видовом составе — оно стало богаче и разнообразнее.

Таблица 1

Численность микроорганизмов в образце почвы ПП15 до и после биоремедиации, КОЕ/г почвы ( $\pm$  доверительный интервал)

Группа	До биоремедиации (1-й посев)	31 день биоремедиации (2-й посев)
Гетеротрофные бактерии (пит. среда LB)	$(5.9 \pm 0,2) \cdot 10^{11}$	$(6,7 \pm 0,3) \cdot 10^{11}$
Нефтеокисляющие бактерии (мин. среда K1)	$(9.0 \pm 0,2) \cdot 10^{10}$	$(9,5 \pm 0,3) \cdot 10^{11}$

Таблица 2

Численность микроорганизмов почвенного образца ПП15 после применения различных методов биоремедиации, КОЕ/г почвы ( $\pm$  доверительный интервал)

	1 вариант		2 вариант		3 вариант		4 вариант		5 вариант	
	LB	K1	LB	K1	LB	K1	LB	K1	LB	K1
КОЕ/г почвы	$5,7 \cdot 10^{11}$	$2,5 \cdot 10^{11}$	$8,8 \cdot 10^{10}$	$5,0 \cdot 10^{11}$	$8,0 \cdot 10^6$	$5,5 \cdot 10^9$	$6,0 \cdot 10^9$	$7,5 \cdot 10^{10}$	$5 \cdot 10^9$	$1,0 \cdot 10^{11}$

Результаты анализа хроматографии показывают насколько интенсивно очистилась почва после проведения эксперимента разными способами. По полученным данным содержание нефтепродуктов и других соединений в вариантах № 1-4 образца ПП15 не обнаружено. В варианте №5 содержание химических соединений равно 860133 условных единиц. Этот вариант представляет собой сухой контроль, в который не вносилось ничего. Данные результатов говорят о том, что эксперимент по биоремедиации в модельных условиях прошел успешно. Внесение в почвенный образец штамма *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7 дал наиболее эффективный результат, где содержание нефтепродуктов сократилось почти на 80%. Использование отдельно штамма и семян клевера позволили очистить почву от загрязнителя примерно на 60 %. Также стоит отметить что изменились некоторые морфологические признаки почвы, а именно пропал резкий характерный запах нефтепродуктов, изменился цвет с темно-серого на черный, исчезли маслянистые пятна.

#### Библиографический список

1. Егорова Д. О. Фарофонова В.В., Шестакова Е. А. и др. Биоремедиация почвы, длительное время загрязненной дихлордифениотрихлорэтаном, с использованием аэробного штамма *Rhodococcus wratislaviensis* СН628 // Почвоведение. 2017. № 10. С. 1262-1269.
2. Егорова Д. О., Шумкова Е. С., Демаков В. А, Плотникова Е. Г. Разложение хлорированных бифенилов и продуктов их биоконверсии штаммом *Rhodococcus* sp. В7а // Прикладная биохимия и микробиология. 2010. том 46. № 6. С. 644-650.
3. Житин Ю. И., Прокопова Л. В. Биоремедиация нефтезагрязненных агроэкосистем. Воронеж, 2012. 95 с.
4. Отчет о выполнении консультационных услуг по договору №16z0245 от 26.02.16 по теме: «Комплексные исследования с целью выявления причин загрязнения подземных вод в бассейне реки Ясыл с разработкой рекомендаций по их локализации. Пермь. 2016. 229 С.
5. Фатина П. Н., Лапаева И. В., Давыдова Е. А. Фиторемедиация — эффективный и экономичный метод очистки почвы, загрязненной нефтью и нефтепродуктами // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2008. С. 75-78.

# УСТОЙЧИВОСТЬ К ЦЕФАЛОСПОРИНАМ У МОЧЕВЫХ ИЗОЛЯТОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ АМБУЛАТОРНЫХ ПАЦИЕНТОВ Г. ЧЕЛЯБИНСК

Жемчуева Д.А., Катаева Е.И.

ФГБОУ ВО «ЧелГУ», г. Челябинск, Россия

**Научный руководитель: доцент, к.б.н. Хайдаршина Н.Э.**

**Актуальность.** Длительный период времени, описывая проблему антибиотикоустойчивости, ограничивались лишь возбудителями госпитальных пациентов. В настоящее время ареал обитания микроорганизмов резистентных к антимикробным препаратам расширяется, выходя за пределы стационаров. И серьезной проблемой мирового масштаба становится антибиотикоустойчивость возбудителей инфекций у амбулаторных больных.

Цефалоспорины третьего поколения являются препаратами выбора при лечении инфекций органов мочевыводящего тракта (МВТ). В связи с этим, практическое значение имеет изучение механизмов формирования резистентности к ним, что позволяет судить о масштабе проблемы и скорости распространения нечувствительности; а также исследование частоты распространения в различных географических регионах, что оказывает помощь в формировании перечня антибактериальных препаратов для старта эмпирической терапии инфекционного процесса.

**Цель работы:** оценить частоту встречаемости устойчивости к цефалоспорином у мочевых изолятов *E.coli*, выделенных от амбулаторных пациентов г. Челябинск.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи:**

1. Определить антибиотикочувствительность штаммов *E.coli*, выделенных от амбулаторных больных.
2. Установить фенотип и генотип устойчивости к цефалоспорином у штаммов *E.coli*, продуцирующих бета-лактамазы.
3. Оценить частоту встречаемости плазмид-опосредованной устойчивости к цефалоспорином у исследованных культур *E. coli*.

**Материалы и методы исследования.** В исследование были включены 253 штаммов *E.coli*, выделенные из мочи амбулаторных пациентов с инфекцией органов мочевыводящего тракта легкой и средней тяжести. В группу обследованных входили мужчины и небеременные женщины 18-75 лет, не принимавшие антимикробные препараты последние 3 месяца. Все культуры выделены из клинического материала в этиологически значимом титре (от  $10^5$  КОЕ/мл).

Посев материала производили количественным методом. Оценку этиологической значимости выполняли согласно методическим рекомендациям «Об унификации микробиологических методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».[1]

Идентификацию выделенных штаммов выполняли с помощью тест-системы «ЭНТЕРОтест 16» производства «LaChema» (Чехия).

Определение чувствительности бактерий к антибиотикам выполняли диско-диффузионным методом согласно клиническим рекомендациям.[2]

Фенотип устойчивости, связанный с продукцией бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС), устанавливали с помощью теста «Метод двойных дисков». [3]

Генотип резистентности изучали методом ПЦР real-time с помощью амплификатора Icusler IQ5 (BioRad) с использованием набора «Резистентность к цефалоспорином – 1 (гены СТХ-М)» («Литех», Россия).



Конъюгативность плазмид, несущих детерминанты устойчивости к цефалоспорином, выполняли по методу Кёртис [3] в модификации Степановой.[4]

Статистический анализ данных осуществляли путем расчета доли резистентных штаммов (в %), с 95%-ным доверительным интервалом (95% ДИ), которые вычисляли методом Джеффриса. Расчёты выполнены в пакете PAST (version 3.20). Статистическую обработку полученных результатов эффективности конъюгации проводили согласно методики, предложенной И.П. Ашмариным, А.А. Воробьевым.

**Результаты исследований.** Структура возбудителей амбулаторных инфекций мочеполового тракта была представлена следующими видами: *E. coli* 46,9%, *Enterococcus faecalis* 21,3%, *Klebsiella pneumoniae* 13,9%, *Streptococcus agalactia* 3,2%, *Proteus mirabilis* 2,1%, *Staphylococcus haemolyticus* и *S.epidermidis* по 1,9%, *Proteus vulgaris* 1,1%. Остальные виды условно-патогенных возбудителей встречались с частотой менее 1% и составляли в сумме 7,7%.

Результаты теста на антибиотикочувствительность выделенных культур *E.coli* – основного возбудителя инфекций МВТ, свидетельствуют о том, что 25,9% штаммов были резистентны к цефалоспорином, 14,8% - аминогликозидам; 51,8% - норфлоксацину. Все изученные бактериальные культуры показали чувствительность к карбапенемам.

Фенотип резистентности, обусловленный синтезом бета-лактамаз расширенного спектра, изучали у тех штаммов, которые в тесте на антибиотикочувствительность показали устойчивость к одному из цефалоспоринов III поколения. У исследованных изолятов *E.coli* было обнаружено 17,5% таких культур. В ходе молекулярно-генетического типирования методом ПЦР real-time у всех описанных штаммов обнаружены гены бета-лактамаз blaCTX-M.

БЛРС типа CTX-M считаются приобретенными, т.е. локализируются исключительно на плазмидах. Частота передачи таких плазмид зависит от многих факторов и, в конечном итоге, определяет скорость распространения такого рода устойчивости. Исследование трансмиссивности плазмид, несущих гены blaCTX-M, показало такую способность у 7% изучаемых культур *E.coli*.

**Заключение.** *E.coli* является приоритетным возбудителем инфекций мочевыводящих путей у амбулаторных пациентов. Частота встречаемости резистентности к бета-лактамам, связанная с продукцией blaCTX-M, составляет 17,5%. У 7,3% культур *E.coli* ген blaCTX-M локализуется на конъюгативной плазмиде.

#### Библиографический список

1. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: Приказ Министерства Здравоохранения СССР от 22 апр. 1985 г. №585.
2. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: методические рекомендации. - 2015. - 162 с.
3. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: методические рекомендации. – М: Федерал. центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2014. – С.154.
4. Кёртис Р. Перенос генов // Методы общей бактериологии: Пер. с англ. в 3 т. /Под ред. Ф. Герхардта и др. – М.: Мир, 1984. – Т.2. – Гл. 14. – С.65-128.
5. Степанова М.В. Постановка конъюгации// Бета-лактамазы: значение и методы выявления: материалы научно-практического семинара. – Смоленск, 2005. – С. 24 – 25.

# АНАЛИЗ СОПРЯЖЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РОДОКОККОВ К АВИАЦИОННОМУ ТОПЛИВУ И АНТИБИОТИКАМ

Загуляева И.Ю.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., профессор Куюкина М.С.**

Загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами является глобальной экологической проблемой. В условиях холодного климата восстановление загрязненных территорий усугубляется ввиду медленно протекающих биологических процессов и скудного биологического разнообразия. В настоящее время для биоремедиации широко применяются актинобактерии, принадлежащие к роду *Rhodococcus*. Родококки выделяются среди других микроорганизмов экологической пластичностью и разнообразием деградируемых загрязнителей, в том числе углеводородных (нефть и нефтепродукты, различные виды топлива) [1]. С позиции биобезопасности важно использовать в открытых экосистемах штаммы биодеструкторов, не проявляющие антибиотикорезистентность.

Цель работы – изучение устойчивости актинобактерий рода *Rhodococcus* к авиационному топливу и антибиотикам.

В работе использовали штаммы *R. erythropolis* ИЭГМ 251, ИЭГМ 1189, *R. jostii* ИЭГМ 60, *R. opacus* ИЭГМ 249, ИЭГМ 717, ИЭГМ 1157, *R. qinghengii* ИЭГМ 1359, *R. rhodochrous* ИЭГМ 639, ИЭГМ 1137, ИЭГМ 1138, *R. ruber* ИЭГМ 234, ИЭГМ 442, ИЭГМ 1263, *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1276 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ; WDCM #768; <http://iegmcol.ru/>). Эмульсию авиатоплива (АТ) готовили в минеральной среде RS в концентрации 99,6 об. % с помощью ультразвукового гомогенизатора Soniprep 150 (Sanyo, Япония). Бактериальные суспензии ( $10^8$  КОЕ/мл; 10 мкл) вносили в 96-луночные микропланшеты с эмульсией АТ (240 мкл). Биотическим контролем служили инокулированные лунки без внесения АТ. Микропланшеты инкубировали на шейкере Titramax-1000 при 28°C и 5°C, 740 об/мин в течение 3 сут, затем в лунки вносили по 30 мкл 0,2% йодонитротетразолия фиолетового (INT, Sigma-Aldrich, США). С помощью микропланшетного спектрофотометра (Multiskan Ascent, Thermo, Финляндия) определяли показатель оптической плотности окрашенных суспензий. Определение антибиотикочувствительности штаммов проводили дискодиффузионным методом [2]. Бактериальные суспензии ( $10^8$  КОЕ/мл; 0,1 мл) вносили на поверхность МПА и равномерно распределяли стерильным шпателем. Диски, пропитанные антибиотическими веществами, накладывали стерильно на поверхность агара (по 4 диска на 1 чашку). Засеянные чашки инкубировали при 28°C. Результаты учитывали на 3 сут путем измерения (в миллиметрах) диаметра зоны ингибирования роста вокруг диска. Использовали бумажные диски, пропитанные стандартными растворами 20 антибиотических веществ: ампициллин, амфотерицин, бензилпенициллин, гентамицин, доксициклин, канамицин, карбенициллин, клиндамицин, клотримазол, левомецетин, линкомицин, неомицин, оксациллин, полимиксин, тетрациклин, фузидин, цефазолин, цефалексин, цефтазид, эритромицин. Коэффициент резистентности (К) рассчитывали как отношение числа антибиотиков, к которому исследуемый штамм устойчив, к общему числу исследованных антибиотиков [3].

По нашим данным, культуры *R. rhodochrous* ИЭГМ 1137, ИЭГМ 1263 и *R. opacus* ИЭГМ 717 являются наиболее устойчивыми к АТ, особенно при температуре 5°C (рис. 1). Показатели жизнеспособности данных штаммов в присутствии углеводородных загрязнителей превышали показатели биологического контроля в 8, 7, и 7,5 раз соответственно. При оптимальных температурных условиях наиболее устойчивым к АТ оказался штамм *R. qingshengii* ИЭГМ 1359, но при низкой температуре его физиологическая

активность снижалась в 6 раз. При изучении антибиотикочувствительности отобранных культур родококков, наиболее устойчивых к воздействию АТ, было выявлено, что штаммы *R. rhodochrous* ИЭГМ 1137 и ИЭГМ 1138 имеют самый низкий коэффициент резистентности ( $K=0,1$ ) (рис. 2). Данные культуры устойчивы лишь к воздействию оксациллина, полимиксина и амфотерицина, а в отношении большинства антибиотиков проявляли высокую степень чувствительности (зоны задержки роста 25-41 мм). Клетки *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1276 устойчивы к 8 антибиотикам (оксациллин, цефазолин, бензилпенициллин, цефтазид, клиндамицин, амфотерицин, цефалексин, карбенициллин) и характеризуются самым высоким коэффициентом резистентности ( $K=0,4$ ) (рис. 2).

Таким образом, в результате исследования отобран штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 1137 – наиболее перспективный для использования в экобиотехнологических целях, характеризующийся высокой степенью жизнеспособности в присутствии АТ и отсутствием множественной антибиотикорезистентности. Применение других устойчивых к АТ культур (например, *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1276, *R. ruber* ИЭГМ 1263, *R. qingshengii* ИЭГМ 1359) осложняется с точки зрения биобезопасности, вследствие их мультирезистентности к антибиотикам.

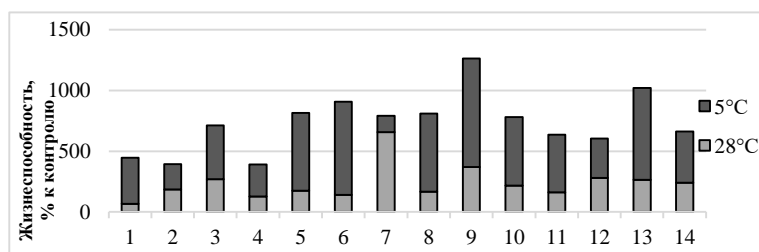


Рис. 1. Диаграмма устойчивости коллекционных штаммов родококков к АТ. Здесь и на рис. 2: 1 - *R. erythropolis* ИЭГМ 251, 2 - *R. erythropolis* ИЭГМ 1189, 3 - *R. jostii* ИЭГМ 60, 4 - *R. opacus* ИЭГМ 249, 5 - *R. opacus* ИЭГМ 717, 6 - *R. opacus* ИЭГМ 1157, 7 - *R. qingshengii* ИЭГМ 1359, 8 - *R. rhodochrous* ИЭГМ 639, 9 - *R. rhodochrous* ИЭГМ 1137, 10 - *R. rhodochrous* ИЭГМ 1138, 11 - *R. ruber* ИЭГМ 234, 12 - *R. ruber* ИЭГМ 442, 13 - *R. ruber* ИЭГМ 1263, 14 - *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1276.

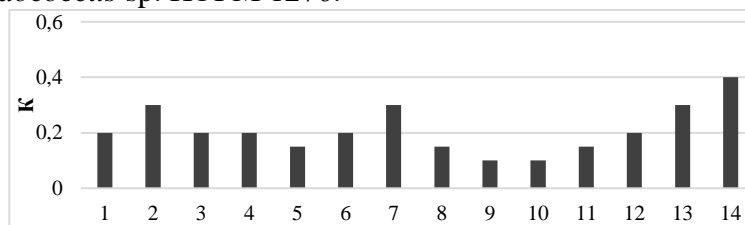


Рис. 2. Диаграмма устойчивости коллекционных штаммов родококков к антибиотикам.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-29-05006.

### Библиографический список

1. Нечаева И.А. и др. Влияние пониженной температуры на биodeградацию гексадекана бактериями-нефтедеструкторами *Rhodococcus* sp. X5, продуцирующими гликопептидные биологические поверхностно-активные вещества // Биотехнология. 2017. Т. 33, № 6, С. 49–56.
2. Ившина И.Б. Большой практикум «Микробиология». СПб : Изд-во Проспект Науки, 2014. 112 с.
3. Серебренникова М.К. Биodeградация нефтяных углеводов иммобилизованными родококками в колончатом биореакторе: дис. ...канд. биол. Наук. Пермь, 2014.

# ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОКСИДА ГРАФЕНА

Ишмухаметов И.Р., Фахруллина Г.И., Нигаматзянова Л.Р., Фахруллин Р.Ф.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ИФМиБ, г. Казань, Россия

Повышенный интерес к нанотехнологии, и в особенности к наноматериалам углеродного происхождения, обусловлен широтой их применения в различных областях биологии, экологии и медицины. Одним из таких многофункциональных материалов является графен, а в частности его окисленная форма. Оксид графена по своей структуре является наноплёнкой с толщиной всего 1-2 нанометра, состоящей из атомов углерода и присоединенных к ним различных кислород-содержащих функциональных групп. Особенное строение оксида графена позволяет рассматривать его как эффективный материал во многих биотехнологических процессах: биоинженерии, доставке веществ, создании биосенсоров, сепарации водных загрязнений и т.д. [1, 2]. Более того, диапазон применения данного наноматериала возможно увеличить за счет его функционализации другими материалами. Так, функционализация оксида графена наноглиной каолином снижает токсичность материала *in vivo*, что особенно важно в случае использования наноматериала в качестве абсорбента водных загрязнений [3].

В данной работе мы получили гиперспектральные свойства оксида графена для возможности дальнейшего картирования наноматериала в биологических объектах. Средний размер и  $\zeta$ -потенциал наноматериала были подсчитаны методом динамического рассеяния света. С помощью метода атомно-силовой микроскопии (АСМ) была изучена планарная морфология оксида графена. Спектральная библиотека была получена на микроскопе в режиме усиленного темного поля снабженного гиперспектральной камерой.

По результатам анализа, размер и  $\zeta$ -потенциал использованных наноматериалов составили  $1944,2 \pm 89,1$  нм и  $-48,6 \pm 2,4$  мВ соответственно. Анализ микрофотографий с АСМ показал, что толщина наноматериала составила не более 2 нм, а диаметр от 1 до 2 мкм (Рис. 1). Также получена спектральная библиотека оксида графена и темнопольные микрофотографии (Рис. 2).

По результатам исследования было выяснено, что морфология и размеры наноматериала согласуются с данными литературы. Помимо этого, показатели адгезии поверхности и  $\zeta$ -потенциал оксида графена подтверждают высокую стабильности коллоидного раствора наночастиц. Полученная спектральная библиотека позволит в дальнейшем картировать наноматериал *in vitro* и *in vivo*.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров и при частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00778 мол\_а.

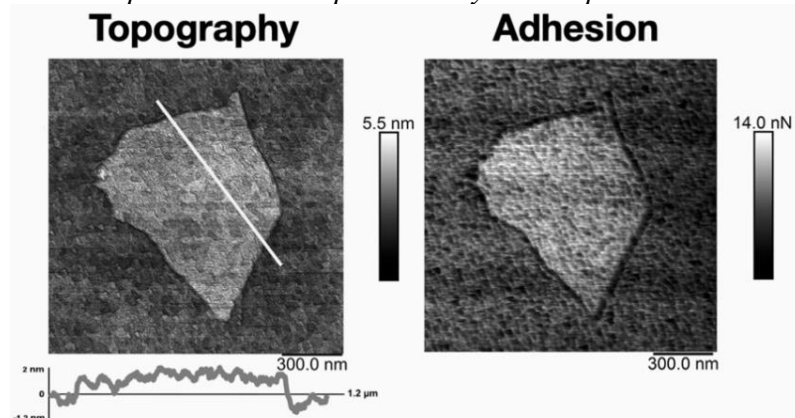


Рис. 1. Морфология и сила адгезии поверхности единичного листа оксида графена, полученные методом АСМ.

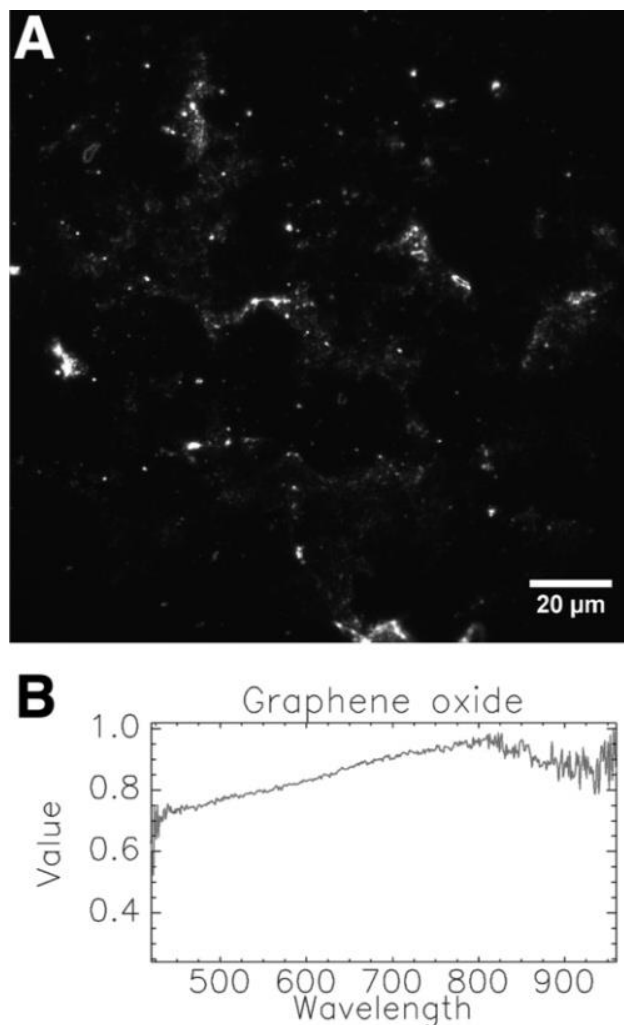


Рис. 2. Темнопольная микрофотография оксида графена (А) и его спектральный анализ (В).

#### Библиографический список

1. Singh D. P., Herrera C. E., Singh B., Singh S., Singh R. K., Kumar R. Graphene oxide: An efficient material and recent approach for biotechnological and biomedical applications // *Materials Science and Engineering: C*. 2018. Vol. 86. P. 173–197.
2. He Y., Liu Y., Wu T., Ma J., Wang X., Gong Q., Kong W., Xing F., Liu Y., Gao, J. An environmentally friendly method for the fabrication of reduced graphene oxide foam with a super oil absorption capacity // *Journal of Hazardous Materials*. 2013. Vol. 260. P. 796–805.
3. Kryuchkova M., Fakhrullin R. Kaolin Alleviates Graphene Oxide Toxicity // *Environmental Science & Technology Letters*. 2018. Vol. 5(5). P. 295–300.

# ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ НАНОГЛИН ТРУБЧАТОЙ ФОРМЫ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ, ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ, СТАРЕНИЕ И ГИБЕЛЬ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Камалиева Р.Ф., Данилушкина А.А., Ишмухаметов И.Р., Фахруллин Р.Ф.,  
Рожина Э.В.

*ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия*

Экспериментальные стратегии изготовления наноконтейнеров на основе нанотрубок галлуазита могут быть построены либо на капсулировании лекарств внутри просвета трубки, либо, альтернативно, лекарственное средство может быть химически связано с внешней поверхностью трубок [1]. При воздействии природного минерала галлуазита в разных концентрациях клетки млекопитающих могут претерпевать изменения в морфологии, скорости клеточного роста, времени гибели и степени дезинтеграции [2]. Для оценки цитотоксичности нанотрубок галлуазита использовали клетки A549 (карцинома легкого человека) и HSF (фибробласты кожи человека). Результаты тестирования показали, что концентрация нанотрубок галлуазита IC<sub>50</sub>, ингибирующая на 50% клеточные функции составляет 300 мкг/10<sup>5</sup> клеток линии A549 и 550 мкг/10<sup>5</sup> клеток линии HSF. Обнаружено, что клетки разного происхождения обладают разной чувствительностью к воздействию нанотрубок галлуазита. Результаты хорошо коррелировали с литературными данными [3]. Кроме того, результаты также подтверждают, что нанотрубки галлуазита являются биосовместимым материалом, поскольку IC<sub>50</sub> для многослойных углеродных нанотрубок составляет 23,5-30,5 мкг/мл [4]. Аналогичные работы нами проведены с использованием магнитных наночастиц на 2Д и 3Д клеток. В настоящее время имеются работы по использованию магнитных наночастиц в медицине для создания искусственных органов. Так, в одной из работ был предложен новый метод сборки клеток с применением полимер-стабилизированных магнитных наночастиц для формирования структур подобных органам и тканям человека [1].

*Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров и гранта РФФИ № проекта 18-34-00306 мол. а. Работа выполнена за счет финансирования в рамках государственного задания 16.2822.2017/4.6. и гранта РФФИ № проекта 18-44-160001.*

## Библиографический список

1. Dzamukova M.R.. Enzyme-activated intracellular drug delivery with tubule clay nanoformulation/ M.R. Dzamukova, E.A. Naumenko, Y.M. Lvov, R.F. Fakhrullin// Sci. Rep.-2015.-V. 5. - № 10560.-P. 1-11.
2. Lvov Y.M. The application of halloysite tubule nanoclay in drug delivery/ Y.M.Lvov, M.M. DeVilliers, R.F. Fakhrullin/ Expert Opin. Drug Deliv.-2016.-V. 13.-№ 7.-P. 977-986.
3. Suh Y. Natural nanocontainer for the controlled delivery of glycerol as a moisturizing agent/ Y. Suh, D. Kil, K. Chung, E. Abdullayev, Y. Lvov, D. Mongayt // J. Nanosci. Nanotechnol.-2011.-V. 11.- № 1.-P. 661-665.
4. Reddy A.R. In vitro cytotoxicity of multi-wall carbon nanotubes on human cell lines/ A.R. Reddy, Y.N. Reddy, D.R. Krishna, V. Himabindu// Toxicol. Environ. Chem.-2010.-V. 92.-№ 9. –P. 1697-1703.

# БИОДЕСТРУКЦИЯ ДИКЛОФЕНАКА НАТРИЯ АКТИНОБАКТЕРИЯМИ

Картагена Г.А.д.П.<sup>1</sup>, Тюмина Е.А.<sup>1,2</sup>, Ившина И.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

В последние годы рост потребления лекарственных препаратов группы нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) населением привело к попаданию их в открытые экосистемы. НПВС детектированы в почве, поверхностных, подземных, питьевых водах, воздухе, снеге и арктических льдах [1]. Присутствие НПВС в окружающей среде чревато биомагнификацией лекарств в пищевых цепочках и разнообразными экотоксическими эффектами на живые организмы [2].

Диклофенак (2-[2-[(2,6-дихлорфенил)амино]фенил]уксусная кислота;  $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$ ; CAS: 15307-86-5) – широко используемое в медицинской и ветеринарной практике НПВС, обладающее выраженным анальгетическим, антипиретическим и противовоспалительным действием. Стабильность молекулы диклофенака обуславливают высокую устойчивость этого ароматического хлорированного азотсодержащего соединения к биоразложению, токсичность, способность к персистированию и, следовательно, опасность для окружающей среды [3]. Поскольку диклофенак натрия проходит очистные фильтры очистных сооружений, подвергается неполной (био)деструкции, а использование современных физико-химических методов его нейтрализации приводит к образованию более токсичных продуктов, актуален поиск современных биотехнологических способов конверсии данного экострессора. Наиболее перспективной группой биоокислителей большого разнообразия ксенобиотиков, в том числе фармполлютантов, являются актинобактерии [4].

Цель настоящей работы – оценка способности актинобактерий к биодеструкции диклофенака натрия.

В работе использовали 220 коллекционных штаммов из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, номер 768 во Всемирной федерации культур, реестровый номер Уникальной научной установки 73559, <http://www.iegmcol.ru/strains/index.html>), принадлежащих к 39 видам актинобактерий: *Agromyces mediolanus* (1 штамм), *Brachybacterium faecium* (1 штамм), *B. paraconglomeratum* (1 штамм), *Brevibacterium linens* (1 штамм), *Clavibacter michiganensis* (1 штамм), *Corynebacterium ammoniagenes* (1 штамм), *C. stationis* (1 штамм), *C. variabile* (1 штамм), *C. vitaeruminis* (1 штамм), *Curtobacterium citreum* (1 штамм), *Gordonia alkanivorans* (1 штамм), *G. amarae* (1 штамм), *G. rubriperctincta* (19 штаммов), *G. terrae* (14 штаммов), *Dietzia maris* (19 штаммов), *Kocuria rosea* (1 штамм), *Microbacterium imperiale* (1 штамм), *Micrococcus luteus* (2 штамма), *M. lylae* (1 штамм), *Nocardioides albus* (1 штамм), *N. jensenii* (1 штамм), *Rhodococcus cerastii* (1 штамм), *R. cercidiphylli* (1 штамм), *R. coprophilus* (1 штамм), *R. corynebacterioides* (2 штамма), *R. erythropolis* (40 штаммов), *R. fascians* (20 штаммов), *R. globerulus* (2 штамма), *R. jostii* (3 штамма), *R. opacus* (14 штаммов), *R. pyridinivorans* (1 штамм), *R. qingshengii* (3 штамма), *R. rhodochrous* (15 штаммов), *R. ruber* (42 штаммов), *R. wratislaviensis* (1 штамм), *R. yunnanensis* (1 штамм), *R. zopfii* (1 штамм), *Williamsia marianensis* (1 штамм), *W. muralis* (1 штамм). Минимальные подавляющие концентрации (МПК) диклофенака в отношении родококков определяли методом двукратных серийных разведений с использованием полистироловых планшетов стандартной конфигурации. Эксперименты по биодеструкции проводили с использованием минеральной среды RS (<http://www.iegmcol.ru/media.html>). Диклофенак

вносили в концентрации 0,005 %. Для повышения деградирующей способности исследованных культур использовали различные приемы – от прединкубации бактериальных клеток в присутствии низких концентраций метаболизируемого субстрата, введения в инкубационную среду дополнительных энергетических субстратов до иммобилизации клеток на различных носителях. Содержание фармвещества и его метаболитов в процессе биодеструкции регистрировали с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Содержание липидов в клетках актинобактерий определяли методом флуоресцентного окрашивания клеток Нильским красным, а гидрофобность клеточной стенки бактерий – методом Salt Aggregation Test. Каталазную активность актинобактерий в процессе биодеструкции диклофенака измеряли спектрофотометрически.

По нашим данным, из всего массива обследованных культур наиболее устойчивыми оказались штаммы, принадлежащие к трем экологически значимым видам родококков *Rhodococcus erythropolis*, *R. rhodochrous* и *R. ruber* (МПК > 200 мг/л). В результате сравнительного анализа деградирующей активности коллекционные штаммы *R. ruber* ИЭГМ 231 и ИЭГМ 346 определены как наиболее активные биодеструкторы диклофенака натрия. Наиболее эффективно процесс биодеструкции диклофенака протекал в присутствии глюкозы (0,5 %) в качестве дополнительного энергетического субстрата: остаточное содержание вещества на 60 сут эксперимента составляло около 50 %. Культивирование родококков в присутствии диклофенака сопровождалось увеличением содержания клеточных липидов, гидрофобности клеточной стенки и изменением каталазной активности, что может рассматриваться как механизмы адаптации бактерий к токсическому воздействию фармполлютанта. Полученные сведения указывают на возможную вовлеченность родококков в процесс деконтаминации природных экосистем от фармацевтических микрополлютантов.

*Исследование поддержано грантами Российского фонда фундаментальных исследований (№ проектов 17-44-590567, 18-34-00109).*

#### **Библиографический список**

1. aus der Beek, T. Pharmaceuticals in the environment – Global occurrences and perspectives / T. aus der Beek [et al.] // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2016. – V. 35, N. 4. – P. 823–835.
2. Richmond, E.K. A diverse suite of pharmaceuticals contaminates stream and riparian food webs / E.K. Richmond [et al.] // *Nature Communications*. – 2018. – V. 9. – P. 1–9.
3. Krzmarzick, M.J. Removal of chlorinated organic compounds during wastewater treatment: achievements and limits / M.J. Krzmarzick P.J. Novak // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014. V. 98. P. 6233–6242.
4. Krivoruchko, A.V. Advanced *Rhodococcus* biocatalysts for environmental biotechnologies / A.V. Krivoruchko, M.S. Kuyukina, I.B. Ivshina // *Catalysts*. 2019. V. 9. P. 1–19.



# НОВЫЕ ШТАММЫ-ДЕСТРУКТОРЫ МОНОХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ

Кирьянова Т.Д.<sup>1</sup>, Егорова Д.О.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

Полихлорированные бифенилы (ПХБ) принадлежат к числу наиболее распространенных и экологически значимых загрязнителей биосферы. Благодаря своим свойствам, полихлорбифенилы слабо подвержены абиотическому разложению, долго остаются в окружающей среде и прочно адсорбируются осадочными материалами. Аккумуляция ПХБ в организме животных и человека приводит к развитию ряда заболеваний, в том числе и онкологических. Микробные сообщества и индивидуальные микроорганизмы, способные разлагать широкий спектр ароматических соединений, вызывают повышенный интерес у исследователей. [1, 2]

Цель работы – поиск новых аэробных бактериальных штаммов, способных эффективно разрушать монохлорбифенилы.

Образец почвы для накопительной культуры был отобран на территории завода «Смазок и СОЖ» г.Пермь, летом 2018г. Накопительная культура была получена путём инкубирования 1г образца в 100 мл минеральной среды К1, содержащей в качестве селективного фактора коммерческую смесь хлорированных бифенилов торговой марки «Совол» в концентрации 100мг/л. Для дальнейшего поддержания использовали 10 мл НК, 90 мл К1 и в качестве ростового субстрата использовали бифенил. Деструкцию 2-ХБ, 3-ХБ и 4-ХБ (начальная концентрация 94, 25мг/мл) проводили в стеклянных флаконах с тефлоновыми крышками, в минеральной среде К1 при +28°С и аэрировании на круговой качалке 160 об./мин. Пробы отбирали через 18ч и 48ч инкубации. Анализ проводили методами ВЭЖХ, спектрофотометрии и ГХ-МС. [3, 4]

Из накопительной культуры выделены 13 штаммов, отличающихся по морфологии и профилю ВОХ-ПЦР. Осуществлен скрининг деградтивной активности в отношении монохлорбифенилов (ХБ) у 6 штаммов (Табл. 1). Установлено, что штаммы PNS4 и PNB5 осуществляют 100%-ю деструкцию 1-2 конгенов монохлорбифенилов. Диапазон эффективности деструкции ХБ у исследованных штаммов составил 17,69 – 100%.

В культуральной среде обнаружены основные метаболиты бактериальной трансформации ХБ – хлорбензойные кислоты, а также свободные ионы хлора (Табл. 2,3). Анализ культуральной жидкости показал, что у большинства исследуемых штаммов концентрация метаболитов к концу инкубации снижается, что позволяет предположить наличие деструктивной активности не только к ХБ, но и к хлорбензойным кислотам. Однако количество свободного хлора не высокое. Полученные результаты позволяют предположить, что трансформация образующихся хлорбензойных кислот протекает медленно и, возможно, с образованием хлоркатехолов или других метаболитов без отщепления хлора от молекулы.

Таблица 1

Деструкция (%) монохлорбифенилов исследуемыми штаммами за 48 часов культивирования

Субстрат	Штаммы					
	PNS1	PNS2	PNS3	PNS4	PNS6	PNB5
2-ХБ	80,84	22,56	80,85	100	49,15	17,69
3-ХБ	51,1	36,23	82,56	75,51	74,26	100
4-ХБ	49,93	96,66	97,81	65,58	18,76	100

Таблица 2

Концентрация хлора (% от теоретического максимума) в культуральной среде через 48 часов  
бактериальной деструкции ХБ

Субстрат	Штаммы					
	PNS1	PNS2	PNS3	PNS4	PNS6	PNB5
2-ХБ	6,88	0,34	0,04	0,13	0,14	2,31
3-ХБ	3,92	0,1	0,21	0,22	0,46	3,64
4-ХБ	1,06	0,1	0,05	0,15	2,1	5,2

Таблица 3

Концентрация хлорбензойных кислот (мг/л) в культуральной среде через 48 часов  
бактериальной деструкции ХБ

Субстрат	Штаммы					
	PNS1	PNS2	PNS3	PNS4	PNS6	PNB5
2-ХБ	н.о.**	0,79*	н.о.**	н.о.	н.о.	3,2
3-ХБ	76,6*	3,44*	133,7*	1039,1	51,48*	20,22*
4-ХБ	50,9*	126,0	82,1	12,2*	13,48*	53,3*

Примечание: \* - концентрация хлорбензойной кислоты на 18ч деструкции была выше; н.о.\*\* - метаболит не обнаружен

На основании полученных данных можно сделать вывод, что все исследуемые штаммы являются активными деструкторами моноклорбифенилов, обладают потенциалом для разложения моноклорбензойных кислот, основных метаболитов деструкции ХБ и подлежат дальнейшему исследованию для отбора наиболее перспективных штаммов-деструкторов ПХБ.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №18-29-05016мк*

#### Библиографический список

1. Полихлорбифенилы. Проблемы экологии, анализа и химической утилизации /Т.И. Горбунова, М.Г. Первова, О.Н. Забелина, В.И. Салоутин, О.Н. Чупахин. – М.:Красанд, 2011. – 400 с.
2. Рыбкина Д.О., Плотникова Е.Г., Дорофеева Л.В., Мироненко Ю.Л., Демаков В.А. // Микробиология. 2003. Т. 72. № 6. С. 759–765.
3. Горбунова Т.И., Петрова М.Г., Забелина О.Н., Салоутин В.И., Чупахин О.Н. Полихлорбифенилы: Проблемы экологии, анализа и химической утилизации / Отв. ред. Чарушин В.Н. // М.: КРАСАНД; Екатеринбург: УрО РАН, 2011. 400с.
4. Егорова Д.О., Шумкова Е.С., Демаков В.А., Плотникова Е.Г. // Прикладная биохимия и микробиология. 2010. Т. 46. № 6. С. 644–650.

# КАЧЕСТВО ВОДЫ В ИСТОЧНИКАХ ПИТЬЕВОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ Д. ВАРНАКИ И Г. НОЛИНСКА (НОЛИНСКИЙ РАЙОН, КИРОВСКАЯ ОБЛАСТЬ)

Князева Е.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н. Т.И. Кочурова**

Вода участвует практически во всех процессах жизнедеятельности, поэтому важно своевременно возмещать её потери приёмом качественной воды. Одним из главных источников чистой воды являются родники. Жители д. Варнаки Нолинского р-на неодобрительно относятся к воде из местного водопровода, используют воду родников, пригодность которой не контролируется. Употребление людьми некачественной воды из родника или водопровода может повлечь за собой различные заболевания. Поэтому также встал вопрос, о качестве водопроводной воды в г. Нолинске, который располагается всего в 12 км от Варнаков. Результаты работы могут быть использованы для информирования местного населения, для снижения возможных экологических рисков. Выявленное в ходе выполнения работы несоответствие водопроводной и родниковой воды требованиям СанПиНа может послужить основанием для обращения в местную администрацию для решения проблемы обеспечения жителей качественной питьевой водой.

**Цель:** исследовать качество родниковой и водопроводной воды в д. Варнаки и г. Нолинске Нолинского района.

**Задачи:** 1. Провести описание родников д. Варнаки, выяснить состояние водопроводов.

2. Выполнить анализ воды по органолептическим и гидрохимическим показателям.

3. Провести определение токсичности воды методом биотестирования.

4. Сравнить качество родниковой и водопроводной воды д. Варнаки, выявить наиболее безопасный для здоровья источник питьевого водоснабжения.

5. Оценить эффективность снижения общей жёсткости воды в бытовых условиях путем кипячения и использования фильтра бытовой доочистки «Аквафор».

**Материал и методы исследования**

Объект исследования - пробы питьевой воды водопроводной сети д. Варнаки, г. Нолинска и воды из двух родников д. Варнаки.

Отбор проб производился по ГОСТ 31862-2012 «Вода питьевая. Отбор проб». Применяли методы органолептического и гидрохимического анализа (определяли запах, цветность, прозрачность, рН, перманганатную окисляемость, общую жёсткость, содержание нитратов, нитритов, хлоридов, сульфатов, ионов аммония, общего железа). Исследования проводили в июне, августе 2016 г., июне 2017 г. в лаборатории, выполняя качественные анализы с приближенной количественной оценкой. Для уточнения результатов в марте, ноябре 2017 г., январе 2018 г. анализы проведены на базе аккредитованной научно-исследовательской экоаналитической лаборатории Вятского государственного университета. Водородный показатель определяли рН-метром, общую жёсткость – титриметрическим методом с трилоном Б, перманганатную окисляемость – титриметрическим методом с перманганатом калия, концентрации общего железа, ионов аммония, нитратов, нитритов - с помощью спектрофотометра ЮНИКО: измеряли оптическую плотность растворов, по градуировочным графикам находили концентрации [1,2]. Результаты приведены в Таблицах 1-2.

Таблица 1

## Результаты гидрохимических исследований 2017 г.

Пробы воды Показатели	Родник №1	Родник №2	Водо-провод №1	Водо-провод №2	Водо-провод №3	Водо-провод №4	СанПиН 2.1.4.1175-02
март							
Жёсткость общ., мг-экв/л (°Ж)	13,1±1,2	11,1±1,0	36,4±3,3	-	-	-	7-10
Нитраты, мг/л	43±5	10,4±1,2	23,5±2,8	-	-	-	≤45
июнь							
Жёсткость общ., мг-экв/л(°Ж)	18,0±1,6	13,4±1,2	33,6±3,0	12,6±1,1	15,4±1,4	19,6±1,8	7-10
Нитраты, мг/дм <sup>3</sup>	54±7	35±4	21,1±2,5	31,0±3,7	23,8±2,9	28,0±3,4	≤45

Таблица 2

## Результаты гидрохимических исследований, январь 2018

Пробы воды Показатели	Родник №2	Водо-провод №1	Водо-провод №1 (фильт.)	Водо-провод №3	Водо-провод №3 (фильт.)	СанПиН 2.1.4.117 5-02
Жёсткость общ., мг -экв/л(°Ж)	22,2±2,0	33,8±3,0	22,0±2,0	14,2±1,3	9,8±0,9	7-10

Устанавливали токсичность воды биотестированием: по смертности ветвистоусых ракообразных *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg, 1900; по изменению численности клеток зелёных водорослей *Scenedesmus quadricauda*; с помощью тест-системы «Эколюм» (тест-организм люминесцентные бактерии *Escherichia coli* и измерительный прибор «Биотокс-10») [4,5,6]. Результаты отражены в Таблице 3.

## Результаты исследования

В ходе выполнения работы исследовано качество воды из 6 источников питьевого водоснабжения.

В 2016 г. проведено изучение качества питьевой воды д. Варнаки, установлено, что она имеет высокую общую жёсткость (в родниках – 11-13 мг-экв/л, в водопроводе – 36 мг-экв/л). Для установления масштаба проблемы в 2017 г. исследования продолжили, расширив перечень изучаемых объектов. Максимальное значение общей жёсткости, в 2017-2018 гг., по-прежнему в водопроводе №1 д. Варнаки. Это создает высокую угрозу для здоровья местного населения. По болезням почек на диспансерном учёте в местном ФАП д. Варнаки состоит 10 человек, что составляет 5% от числа всех жителей деревни. Жёсткость зависит от глубины, с которой поступает вода, так же этому способствует состав горных пород в районе формирования подземных вод, преобладающей породой данной местности являются известняки, прохождение через которые способствуют повышению карбонатной жесткости вод [3]. Кроме того, зарегистрирована высокая концентрация нитратов в роднике №1, причиной могут являться старые загрязнения азотными удобрениями расположенных рядом полей, а также выше по склонам животноводческие фермы по разведению крупного рогатого скота – коров. При длительном употреблении питьевой воды, содержащих значительные количества нитратов, возрастает концентрация метгемоглобина в крови, снижается способность крови к переносу кислорода, возникают кислородное голодание тканей, ухудшение самочувствия, возможен летальный исход.

Таблица 3

## Результаты определения токсичности, 2017 г.

Пробы воды	На цериодафниях, март		Тест системой «Эколюм», март		На сценедесмусе, ноябрь	
	Гибель, %	Оценка	Значение индекса токсичности	Оценка	Отклонение от контроля, %	Оценка
Родник №1	30	Не оказывает острого токсического действия, но не является безвредной	$-26,0 \pm 2,9 \Rightarrow 0$	Не токсичен	-18	Нетоксичная
Родник №2	40	Не оказывает острого токсического действия, но не является безвредной	$-88,8 \pm 23,4 \Rightarrow 0$	Не токсичен	16	Нетоксичная
Водопровод №1	40	Не оказывает острого токсического действия, но не является безвредной	$8,8 \pm 5,9$	Не токсичен	-12	Нетоксичная
Водопровод №3	-	-	-	-	0,5	Нетоксичная

В январе 2018 года исследования были продолжены, анализировались пробы только той воды, которую употребляет моя семья. Пробы кипятились и фильтровались (пропускались через фильтр доочистки и умягчения кувшин «Аквафор»), чтобы узнать эффективность снижения жёсткости в домашних условиях. Выяснилось, что общая жёсткость во всех пробах превышает СанПиН, но после фильтрования «Аквафором», фильтром доочистки и умягчения, показатель жёсткости уменьшился на 30-35%, а кипячением лишь на 18%. На протяжении исследований остальные анализируемые показатели находились в пределах нормы.

В 2017 г. проводились исследования методами биотестирования. Определение токсичности по смертности цериодафний показало, что все пробы не оказывают острого токсического действия, т.к. показатели ниже 50%. В то же время они не являются безвредными по показателю токсичность, т.к. гибель цериодафний более 10%. Определение токсичность с помощью тест-системы «Эколюм» показало, что все пробы относятся к I группе токсичности, т.е. не являются токсичными. Высокий отрицательный показатель родниковой воды говорит о том, что вода стимулирует биолюминесценцию бактерий. Определение токсичности с помощью водорослей установило, что отклонение от контроля ни в одной из проб не превысило 20%, что свидетельствует об их безвредности по показателю «токсичность». Отрицательное процентное отклонение в пробах из родника №1 и водопровода № 1 говорит о стимулировании роста клеток в исследуемой воде по сравнению с контролем, т. к. стимуляция не превысила 30%, то данный эффект не свидетельствует о наличии токсичности.

## Выводы

1. При описании родников выявлено замусоривание прилегающих территорий, наличие неподалеку животноводческой фермы. Состояние водопровода д. Варнаки удовлетворительное, большая часть водопроводной сети г. Нолинска требует замены.

2. Вся исследуемая вода имеет хорошие органолептические показатели, соответствующие требованиям СанПиН 2.1.4.1175-02 к источникам питьевого водоснабжения.

3. Большинство гидрохимических показателей соответствуют нормам СанПиНа, однако содержание нитратов в родниках на уровне 1 ПДК указывает на присутствие давнего органического загрязнения. Вода всех источников имеет высокую общую жёсткость (1,1-3 ПДК); в водопровode №1 д. Варнаки в 4-5 раз превышает нормативные значения.

4. Результаты биотестирования на цериодафниях показали, что все пробы не оказывают острого токсического действия, но не являются безвредными по показателю токсичность. Биотестирование с использованием тест-системы «Эколюм» и зелёных водорослей не выявило токсического действия.

5. Лучшими из источников питьевого водоснабжения д. Варнаки можно считать родник №2 и водопровод № 2, показатель общей жёсткости в них наименьший.

6. Установлена бóльшая эффективность использования фильтра бытовой доочистки воды «Аквофор» для снижения общей жёсткости в сравнении с кипячением.

Гипотеза подтвердилась частично. Очень высокая жёсткость воды из водопровода №1 д. Варнаки свидетельствуют о её более низком качестве, в сравнении с родниковой. Однако содержание нитратов на уровне 1 ПДК, высокая жёсткость дают основание с осторожностью относиться к родникам, как к альтернативным источникам питьевого водоснабжения. Проблема высокой жёсткости воды характерна и для г. Нолинска, что обусловлено особенностями геологического строения территории (присутствие известняков в составе горных пород), большой глубиной залегания водоносных горизонтов.

### **Библиографический список**

1. Мельник А.А., Попова Л.Ф. и др. Экологический практикум. Качественный анализ природных объектов. Методические разработки.– Архангельск: Изд-во ПГУ, 2000.

2. Экологический мониторинг: Учебно-методическое пособие. Изд. 3-е, испр. и доп. / Под ред. Т.Я. Ашихминой. М.: Академический Проект, 2006. - 416 с. - («Gaudeamus»).

3. Энциклопедия Земли Вятской. Том 7. Природа / Составитель А.Н. Соловьёв. – Киров: Областная писательская организация. 1997.

4. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водорослей, Федеральный реестр ФР.1.39.2007.03223 <http://www.gostrf.com/normadata/1/4293842/4293842245.htm#i4622177>

5. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению интенсивности бактериальной биолюминесценции тест-системой «Эколюм» ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.11-04, 16.1:2.3:3.8-04 <http://www.opengost.ru/iso/4085-pnd-f-t-14.1234.11-04-16.1.33.8-04-toksikologicheskie-metody-kontrolya.-metodika-opredeleniya-toksichnosti-vody-i-vodnyh-vytyazhekiz-pochv-osadkov-stochnyh-vod.html>

6. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости цериодафний, Федеральный реестр ФР.1.39.2007.03221 <http://lawru.info/dok/2007/01/03/n298464.htm>

# ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ ГОРОХА ЭНДОФИТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ НА РОСТ, КЛУБЕНЬКООБРАЗУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ

Коряков И.С.

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», г. Уфа, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доцент БашГУ Гарипова С.Р.**

Эндофитные бактерии вызывают повышенный интерес в связи с выявленными положительными воздействиями на растения за счет синтеза фитогормонов, сидерофоров, защиты от фитопатогенов, способности к азотфиксации [1], в результате чего снижается необходимость в химических удобрениях и пестицидах. Однако, инокуляция растений потенциально полезными эндофитными бактериями не всегда оказывает ожидаемый результат. Это может быть связано как с дозой вносимых клеток бактерий [2-4], так и с влиянием условий среды. Целью данной работы являлась оценка влияния разных концентраций эндофитных бактерий на рост растений гороха, его клубенькообразующую активность и продуктивность в полевых условиях.

Объектами исследования служили изоляты эндофитных бактерий, выделенные из растений гороха на картофельно-глюкозный агар [1]. Семена гороха сорта Чишминский 95 получены в Селекционном центре «Чишминский» (БНИИСХ). В лабораторных экспериментах семена гороха стерилизовали 20 минут в растворе диацета, который удаляли 5-кратной промывкой стерильной водой. На семена наносили водную суспензию клеток бактерий, смытых с твердой агаризованной среды. Необходимую дозу клеток получали путем сопоставления инокулянта со стандартом мутности и кратных разведений. Контроль плотности клеток бактерий в инокулюме осуществляли с помощью подсчета в камере Горяева. Инокулированные семена укладывали на влажные фильтры в кюветы по 60 семян в каждом варианте и инкубировали 7 суток при температуре 22 °С. Полевой опыт закладывали на серой лесной почве в Мечетлинском районе Республики Башкортостан. Плотность посева 25 штук семян на погонный метр, расстояние между рядами 20 см. Делянки 1 м<sup>2</sup> размещали рендомизированно в трех повторах. Семена инокулировали водной суспензией бактерий в дозе 10<sup>5</sup> клеток/семя. Контроль обрабатывали эквивалентным количеством стерильной воды. Клубенькообразующую способность растений определяли по количеству клубеньков на корнях растений в фазу бутонизации. Урожай рассчитывали по продуктивности индивидуальных растений с учетом плотности растений. В таблицах представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки при  $p < 0,05$ .

Анализ ростовых характеристик инокулированных растений показал, что испытанные штаммы бактерий в разных дозах внесения дифференцированно влияли на рост растений. Изоляты BS1 и BL3, РКК при увеличении дозы бактерий достоверно увеличивали рост корней относительно низкой дозы того же изолята, а изолят BK2 оказывал противоположный эффект. Достоверное увеличение роста корня на 45 % относительно контроля без инокуляции и увеличение в 4 раза длины побега было отмечено в варианте обработки изолятом BS1 в дозе 10<sup>5</sup> клеток/семя и BK2 в дозе 10<sup>3</sup> клеток/семя. Значимое торможение роста корня и побега выявлено при инокуляции изолятами РКК в дозе 10<sup>3</sup> клеток/семя и BL3 в дозе 10<sup>3</sup> клеток/семя.

Доза-зависимое влияние эндофитных бактерий на рост корней гороха не согласовывалось линейной зависимостью с уровнем продукции индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) у этих изолятов, определенных ранее [1]. По-видимому, интерферирующие воздействия могут оказывать другие фитогормон-подобные соединения или сигнальные факторы, вырабатываемые бактериями. Следовательно, этот вопрос требует более тщательного изучения.

Таблица 1.

Влияние разных доз (клеток/семя) изолятов эндофитных бактерий на длину корней и побегов гороха сорта Чишминский-95

Изоляты и доза их внесения	Длина корня, см	Длина побега, см	Изоляты и доза их внесения	Длина корня, см	Длина побега, см
Контроль без инокуляции	2,0 ± 0,1	0,1±0,1	BL3 10 <sup>3</sup>	1,2±0,2	0
			BL3 10 <sup>5</sup>	2,2±0,3	0,2±0,1
BS1 10 <sup>3</sup>	2,1±0,2	0,3±0,2	GKL 10 <sup>3</sup>	2,0±0,2	0,3±0,1
BS1 10 <sup>5</sup>	2,9±0,3	0,4±0,1	GKL 10 <sup>5</sup>	1,8±0,2	0,2±0,1
BK2 10 <sup>3</sup>	2,9±0,3	0,4±0,1	PKK 10 <sup>3</sup>	0,7 ± 0,2	0
BK2 10 <sup>5</sup>	1,6±0,2	0	PKK 10 <sup>5</sup>	1,6±0,3	0

В полевых условиях испытывали 6 изолятов (табл. 2). Инокуляция тремя изолятами достоверно увеличила урожай семян: изоляты PKK и BK2 – на 67 и 74 % относительно контроля без инокуляции, изолят GKL – в 2,5 раза выше контроля. Применение изолятов BK2 и GKL способствовало увеличению количества клубеньков на 37 и 49 % по отношению к контролю. Высота инокулированных растений всеми вариантами изолятов не отличалась от контрольных.

Таблица 2.

Влияние штаммов эндофитных бактерий на продуктивность растений гороха

Названия штаммов	Масса семян, г/м <sup>2</sup>	Количество клубеньков, шт./растение	Высота побега, см
Контроль без инокуляции	55 ± 16	37,34 ± 3,80	15,56 ± 0,89
BS1	53 ± 13	34,25 ± 3,60	15,67 ± 0,99
BK2	95 ± 12	50,61 ± 5,37	15,28 ± 0,67
BL3	52 ± 15	40,53 ± 3,15	15,76 ± 0,66
GKL	140 ± 23	55,14 ± 4,65	15,71 ± 0,51
PKL	59 ± 17	37,25 ± 4,66	15,25 ± 1,02
PKK	91 ± 14	37,13 ± 3,78	16,33 ± 0,71

Таким образом, эндофитные бактерии, выделенные из растений гороха, оказали положительное действие на рост растений в полевых условиях. Но зависимость семенной продуктивности с ростовым эффектом 7-суточных растений, так же как и доза-зависимый эффект и рост корней проростков имели более сложный нелинейный характер, причины которого требуют специального выяснения.

#### Библиографический список

1. Коряков И.С., Гарипова С.Р., Ласточкина О.В., Пусенкова Л.И., Благова Д.К., Хайруллин Р.М. Оценка свойств эндофитных бактерий, выделенных из растений гороха (*Pisum sativum* L.) и пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Известия Уфимского научного центра РАН. 2018. №3(6). С. 73-764.
2. Иванчина Н.В., Гарипова С.Р., Хайруллин Р.М. Влияние дозы клеток эндофитных штаммов *Bacillus subtilis*, продуцирующих индолил-3-уксусную кислоту, на рост и продуктивность гороха (*Pisum sativum* L.) // Агрехимия. 2018. №4. С. 39-44.
3. Чан М.К., Егоров М.А. Исследование ростостимулирующей активности штамма рода *Bacillus*, выделенного из клубеньков *Vigna cylindrical* // Биотехнология. 2011. № 2(35). С. 106–109.
4. Гарипова С.Р., Маркова О.В., Гарифуллина Д.В., Анисимова Л.Г., Ласточкина О.В., Пусенкова Л.И., Кулабухова Д.Ю., Кенджиева А.А., Хайруллин Р.М. Влияние ассоциаций и штаммов эндофитных бактерий на рост различных видов растений // История и методология физиолого-биохимических и почвенных исследований. Сб. науч. трудов по матер. науч. конф., посвященной 100-летию кафедры физиологии растений и микроорганизмов Пермского государственного национального исследовательского университета. Пермь, 2017. С. 12-15.



# ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА РАЗВИТИЕ ПОСЛЕУБОРОЧНЫХ БОЛЕЗНЕЙ (*PHYTOPHTHORA INFESTANS* И *FUSARIUM OXYSPORUM*) КАРТОФЕЛЯ ПРИ ХРАНЕНИИ

Кулабухова Д.Ю.<sup>1</sup>, Шаяхметова А.С.<sup>1,3</sup>, Коряков И.С.<sup>3</sup>, Собхани М.<sup>4</sup>,  
Пусенкова Л.И.<sup>1</sup>, Гарипова С.Р.<sup>1,3</sup>, Ласточкина О.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства УФИЦ РАН, г. Уфа, Россия

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», г. Уфа, Россия

<sup>4</sup>Тегеранский университет, г. Тегеран, Иран

Потери картофеля (40-60% от общего урожая) от послеуборочных заболеваний при хранении являются одной из наиболее острых проблем современного сельского хозяйства и пищевой промышленности [1]. В качестве безопасных природных агентов для борьбы с болезнями картофеля рассматриваются бактерии *Bacillus subtilis* с хорошо известной ролью в регуляции роста и антистрессовых физиологических программ растений [2, 3]. При этом, особый интерес представляют эндофитные *B. subtilis*, живущие внутри растительных тканей, что позволяет им меньше зависеть от факторов внешней среды (по сравнению с ризосферными и филлосферными штаммами), проявляя при этом «полезные» свойства [3,4].

Однако, ввиду того, что трудно подобрать один эффективный штамм с широким спектром активности против ряда патогенов, интерес представляет совместное применение *B. subtilis* с другими биологическими или физическими методами [4, 5].

В данной работе исследовано влияние эндофитных бактерий *B. subtilis* (штаммы 10-4, 26D) в широком диапазоне концентраций ( $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$  КОЕ/мл), как в отдельности, так и совместно в композициях с природной сигнальной молекулой салициловой кислотой (СК) на развитие болезней, вызванных *Phytophthora infestans* (возбудитель фитофтороза) и *Fusarium oxysporum* (возбудитель фузариозного увядания и сухой гнили) в клубнях картофеля при хранении. Эксперименты проводились на безвирусных мини-клубнях картофеля (*Solanum tuberosum* L., сорт Башкирский), выращенных с использованием гидропонной системы. Перед хранением клубни погружались в суспензии *Ph. infestans* ( $10^8$  спор/мл), *F. oxysporum* ( $10^6$  спор/мл) и воду (контроль) на 30 минут и подсушивались. Далее клубни погружались в растворы с суспензиями *B. subtilis* (штаммы 10-4, 26D) в концентрациях 0,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$  КОЕ/мл как отдельно, так и в композициях с СК (0,05 мМ) на 30 минут, подсушивались и закладывались на хранение при  $18 \pm 1^\circ\text{C}$  (2 недели), а затем при  $3 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Анализ развития болезней при хранении картофеля в течение 3-5 месяцев позволил выявить дозо-зависимый характер действия *B. subtilis* (10-4, 26D) как в отдельности, так и в композициях с СК. Так, *B. subtilis* (10-4, 26D) видимо начинали подавлять развитие *Ph. infestans* и *F. oxysporum* начиная с концентрации  $10^6$  КОЕ/мл и более. Вместе с тем, наиболее оптимальными концентрациями штаммов 10-4 и 26D способными значительно снизить развитие одновременно двух болезней (фитофтороза и фузариоза) оказалась концентрация  $10^8$  КОЕ/мл. Интересно, что при использовании *B. subtilis* (10-4, 26D) в комплексе с СК эффективность бактерий начинала проявляться уже при использовании клеток бактерий в концентрации  $10^5$  КОЕ/мл. Тем не менее, наиболее эффективными в подавлении как *Ph. infestans*, так и *F. oxysporum* были концентрации  $10^7$  КОЕ/мл (для варианта 10-4+СК) и  $10^6$

КОЕ/мл (для варианта 26D+СК). К тому же в вариантах с совместным применением *B. subtilis* (особенно штамм 10-4) и СК клубни были более свежие, чем в остальных вариантах. Применение *B. subtilis* (10-4, 26D) как в отдельности, так и в комплексе с СК способствовала снижению уровня патоген-индуцированного перекисного окисления липидов в клубнях, что свидетельствует в пользу защищенности клеток от повреждающего действия активных форм кислорода и контроле процессов старения.

Таким образом, совокупность полученных данных указывает на дозо-зависимый характер влияния эндофитных бактерий *B. subtilis* 10-4 и 26D, как в отдельности, так и в композициях с СК на степень развития послеуборочных болезней (фитофтороза и фузариоза) в клубнях при хранении. Причем, наиболее эффективные в подавлении развития обеих болезней концентрации *B. subtilis* 10-4, 26D как в отдельности, так и в композиции с СК способствовали снижению уровня вызванного патогенами окислительного стресса и проявлялись в увеличении срока хранения клубней с сохранением их внешнего вида и свежести.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (№ 18-76-00031).*

### Библиографический список

1. FAO. Food Losses and Waste. 2015. Available online: <http://www.fao.org/food-loss-and-food-waste/en/> (accessed on 21 September 2018).
2. Kim G.H.; Koh Y.J.; Jung J.S.; Hur J.S. Control of postharvest fruit rot diseases of kiwifruit by antagonistic bacterium *Bacillus subtilis* // *Acta Hort.* 2015. V. 1096. P. 377-382.
3. Buchholz F.; Kostic T.; Sessitsch A.; Mitter B. The potential of plant microbiota in reducing postharvest food loss // *Microb Biotechnol.* 2018. V. 11. P. 971-975.
4. Lastochkina O., Seifikalhor M., Aliniaefard S., Baymiev A., Pusenkova L., Garipova S., Kulabuhova D., Maksimov I. *Bacillus* spp.: efficient biotic strategy to control postharvest diseases of fruits and vegetables // *Plants.* 2019. V. 8(4). P. 97-121. <https://doi.org/10.3390/plants8040097>
5. Drobny S. Improving quality and safety of fresh fruit and vegetables after harvest by the use of biocontrol agents and natural materials // *Acta Hort.* 2006. V. 709. P. 45-51.

## ДЕЙСТВИЕ ПАРОВ ЭФИРНОГО МАСЛА БЕРГАМОТА НА БАКТЕРИИ И ПРОРАСТАНИЕ СПОР ПЛЕСЕНИ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВОЗДУХА ЗАКРЫТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

Кулакова М.В.<sup>1</sup>, Полюдова Т.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.м.н, доцент, заведующий Лабораторией биохимии развития микроорганизмов «ИЭГМ УрО РАН» Коробов В.П.**

Воздух является важнейшим компонентом окружающей среды, качество которого играет немаловажную роль в жизни человека. Наиболее опасно биологическое загрязнение воздуха, т.е. загрязнение микроорганизмами. В составе микрофлоры воздуха могут встретиться возбудители опасных заболеваний. Поэтому поиск способов обеззараживания воздушной среды помещений является высоко актуальным. В последние годы проявляется тенденция научных разработок к использованию эфирных масел для очистки воздуха от микробного загрязнения [1]. Эфирные масла (ЭМ) представляют собой многокомпонентные смеси летучих соединений. Их антибактериальная активность показана многими авторами [1,

2]. Свойства высокой летучести ЭМ могут быть использованы для оздоровления воздушной среды закрытых помещений.

Целью настоящего исследования явилось изучение антибактериальной активности ЭМ в отношении бактерий и спор плесневых грибов, выделенных из воздуха.

Скрининг антимикробного действия ЭМ проводили методом диффузии с дисков [2]. Объектами исследования явились бактерии, выделенные ранее из продуктов питания *Staphylococcus* sp. №4 и №8. В работе использовали ЭМ бергамота, жасмина крупноцветкового, кедр атласского и сосны обыкновенной (ООО «Ботаника» г. Москва).

При изучении чувствительности стафилококков к ЭМ выявлена возможность эффективного подавления их развития исследованными препаратами (табл.1). Наиболее выраженное действие на стафилококки проявляло ЭМ бергамота. Поскольку одними из представителей антимикробных веществ в составе ЭМ являются фенольные соединения [2], было проведено исследование масел на содержание этих веществ титриметрическим методом [3].

При сопоставлении полученных результатов аналитических исследований с данными по антибактериальной активности ЭМ выявлена прямая корреляция между показателями содержания фенолов и ингибирования роста стафилококков (рис. 1), что согласуется с результатами других исследователей [2].

Таблица 1

Диаметр зон подавления роста *Staphylococcus* sp (мм)

Штамм	№4	№8
Эфирное масло		
Бергамот	48 ± 1,5	56 ± 2,1
Жасмин крупноцветковый	38 ± 2,8	34 ± 0,4
Кедр атласский	26 ± 1,7	30 ± 0,0
Сосна обыкновенная	32 ± 0,9	44 ± 3,2

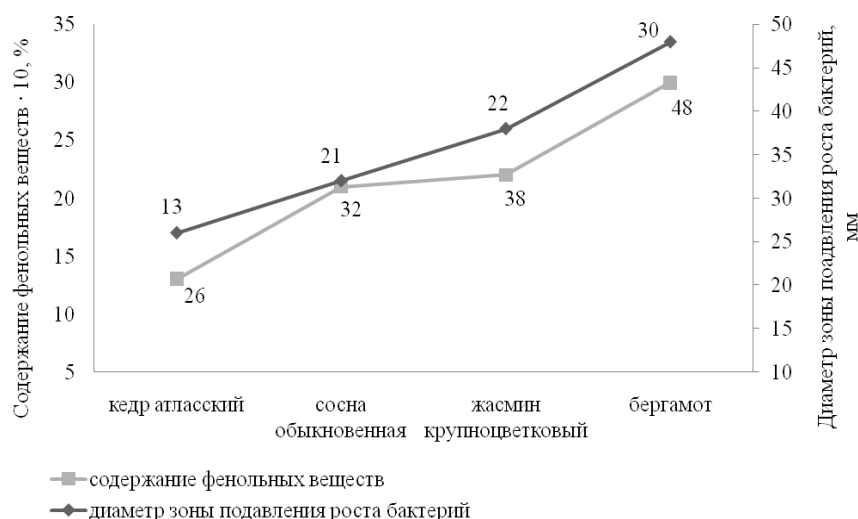


Рис. 1. Корреляция между содержанием фенольных соединений в ЭМ и их антибактериальной активностью в отношении стафилококков

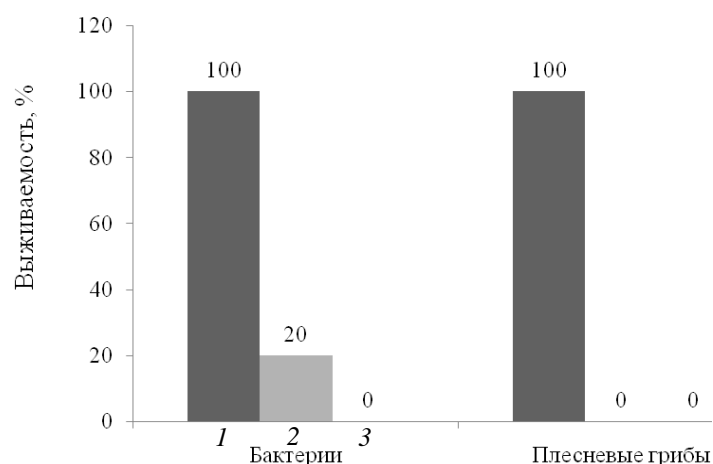


Рис.2. Выживаемость микрофлоры воздуха при воздействии паров ЭМ бергамота с концентрацией, мкг/см<sup>3</sup>: 1 – 0; 2 – 20; 3 – 40

На следующем этапе работы было проведено изучение действия паров ЭМ бергамота, как наиболее активного из исследованных масел, на микрофлору, выделенную из воздуха учебной аудитории методом седиментации. Для этого чашки Петри с LB-агаром или средой Сабуро (для выявления плесневых грибов) после 5 мин открытой экспозиции помещали без крышки в стерильные эксикаторы объемом 5000 см<sup>3</sup>, на стенки которых наносили 100 или 200 мкл ЭМ бергамота. Контрольные чашки Петри помещали в эксикаторы без добавления ЭМ. Далее с помощью вакуумной смазки эксикаторы герметично закрывали крышкой. Инкубацию в атмосфере паров масла проводили в течение 7 суток. Результаты проведенных исследований представлены на рис. 2.

Установлено, что при концентрации испарений масла бергамота 20 мкг/см<sup>3</sup> количество колоний бактерий снижается на 80%, а при увеличении концентрации паров масла в 2 раза рост бактериальной микрофлоры воздуха полностью ингибировался. Плесневые грибы, выделенные из воздуха, были более чувствительны к парам ЭМ бергамота. Полное ингибирование прорастания спор наблюдалось уже при концентрации паров 20 мкг/см<sup>3</sup>.

Таким, образом, представленные результаты свидетельствуют о высокой антимикробной активности исследуемых масел. Полученные данные открывают перспективы для применения ЭМ с целью обеззараживания воздуха помещений.

### Библиографический список

1. Гуляев Д.К., Новикова В.В., Белоногова В.Д. Антибактериальная и противогрибковая активность эфирного масла древесной зелени ели обыкновенной и его отдельных фракций // Медицинский альманах. – 2015. - № 4 (39). – с. 213-214.
2. Vetas D., Dimitropoulou E., Mitropolou G., Kourkoutas Y., Giaouris E. Disinfection efficiencies of sage and spearmint essential oils against planktonic and biofilm *Staphylococcus aureus* cells in comparison with sodium hypochlorite // Int. J. of Food Microbiology. 2017. V. 257. P. 19-25.
3. Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах. ОФС.1.5.3.0008.15. Гос. фармакопея РФ. XIII издание. Т. 2. 2015.

## МИКРОБИОТА КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА: МЕТАГЕНОМ ПРИ ПЕРСИСТЕНЦИИ *H. PYLORI*

Куприянова Е.А.<sup>1</sup>, Хуснутдинова Д.Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, г. Казань, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., проф. Чернов В.М.**

Развитие постгеномных технологий и методов мета-омикс профилирования открыли принципиально новые возможности изучения микробных сообществ и их взаимодействия с высшими организмами. Реализация международного проекта «Микробиом человека» индуцировала интенсивные исследования микробиоты кишечника человека в норме и при патологии. С этими исследованиями связывают открытие новых путей регуляции физиологии человека и способов лечения, основанных на таргетной модуляции микробиомов [1]. Проблемными заболеваниями человека в настоящее время остаются заболевания ЖКТ, ассоциированные с инфицированием *Helicobacter pylori* [2]. Однако данные в отношении микробиомного профилирования при персистенции *H.pylori* у человека единичны, а структурно-функциональная характеристика микробиоты кишечника при инфицировании ЖКТ *H.pylori* отсутствует. Выяснение особенностей кишечной микробиоты в отношении структуры и потенциальных метаболических путей у индивидов при инфицировании ЖКТ *H.pylori* явилось целью наших исследований.

Для определения особенностей структуры и метаболического потенциала кишечной микробиоты был использован метагеномный подход. Нами были получены образцы содержимого кишечника от двух групп пациентов с заболеваниями ЖКТ - 54 *H.pylori*-положительных пациентов до и после лечения и 42 *H.pylori*-отрицательных пациентов. Все пациенты, инфицированные *H.pylori*, прошли эрадикационную терапию согласно V Маахстрихтскому протоколу. Образцы подвергались гомогенизированию и дальнейшему выделению ДНК с помощью коммерческого набора для выделения нуклеиновых кислот. С выделенной ДНК проводилась подготовка метагеномных библиотек; секвенирование осуществлялось на приборе SOLiD 5500 Wildfire. В результате шотган-секвенирования образцов каждого пациента сравниваемых когорт было получено от 6 до 60 млн. ридов. Для получения структурной характеристики микробиоты был использован подход, основанный на анализе последовательностей клада-специфичных генов в программе MetaPhlan. Для выяснения метаболического потенциала микробиома полученный пул метагеномных данных был картирован на базу данных MetaCyc.

Согласно полученным результатам, структура микробиоты кишечника в сравниваемых когортах в отношении присутствия основных таксонов микроорганизмов схожа. Почти 98% микробиоты кишечника пациентов составляют бактерии, около 1% - археи, 1% - вирусы. Однако в группе инфицированных после лечения доля вирусов возросла до 3%, а доля бактерий, соответственно, уменьшилась и количество бактериальных родов снизилось. Для оценки разнообразия микробного сообщества был использован индекс Шеннона. Этот показатель у неинфицированных и инфицированных до лечения оказался близким, а после антибиотикотерапии уменьшился. Существенные различия в группах и подгруппах обнаружены в отношении лактобактерий и бифидобактерий. При этом доля пробиотических бактерий у инфицированных пациентов до лечения оказалась больше, чем у неинфицированных.

В результате анализа пула ридов в микробиоме кишечника пациентов было выявлено около 500 метаболических путей. Полученные данные свидетельствуют о том, что метаболический потенциал микробиома кишечника когорты инфицированных пациентов до

и после лечения различается, в том числе в отношении путей образования полиаминов – ингибиторов инфламмосомы и запуска антимикробной программы в кишечнике. Согласно результатам сравнительного анализа, метаболический потенциал микробиома кишечника инфицированных и неинфицированных пациентов тоже существенно различается, особенно в отношении суперпути деградации таурина - триггера сборки инфламмосомы и ингибитора воспалительных процессов в кишечнике [3]. Актуальным таксоном, представители которого используют в своем метаболизме таурин, является род *Bilophila* [4]. Представители этого таксона нами были обнаружены во всех группах и подгруппах обследуемых пациентов, однако в группе пациентов, неинфицированных *H.pylori*, количество *Bilophila* оказалось почти в 3 раза больше. В норме представленность *Bilophila* в кишечной микробиоте человека соответствует 0.01-0.015%. Представленность этих бактерий у пациентов во всех обследуемых нами когортах оказалась значительно выше показателей нормы (0.3%, 0.1% и 0.05% у неинфицированных и инфицированных *H.pylori* до и после лечения соответственно).

Выявленные нами особенности структуры и функции микробиоты у пациентов при персистенции *H.pylori* (повышенное количество генов, определяющих образование полиаминов и повышенное количество лактобактерий, продуцирующих спермин, а также высокое количество *Bilophila*) могут вносить существенный вклад в регуляторную сеть патологических процессов. Однако для верификации предположения еще потребуются широкомасштабные исследования с дополнительной стратификацией когорт.

#### Библиографический список

1) Liang, D. Involvement of gut microbiome in human health and disease: brief overview, knowledge gaps and research opportunities [Text] / D. Liang, R. K. Leung, W. Guan, W. W. Au // Gut Pathog. – 2018. – Vol. 10.

2) Roberts, S.E. Review article: the prevalence of Helicobacter pylori and the incidence of gastric cancer across Europe [Text] / S.E. Roberts, S. Morrison-Rees, D.G. Samuel // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2016. – Vol. 43. – P. 334–345.

3) Levy, M. Microbiota-Modulated Metabolites Shape the Intestinal Microenvironment by Regulating NLRP6 Inflammasome Signaling [Text] / M. Levy, C.A. Thaiss, D. Zeevi, L. Dohnalová, G. Zilberman-Schapira, J.A. Mahdi, E. David, A. Savidor, T. Korem, Y. Herzig, M. Pevsner-Fischer, H. Shapiro, A. Christ, A. Harmelin, Z. Halpern, E. Latz, R.A. Flavell, I. Amit, E. Segal, E. Elinav // Cell. – 2015. – Vol. 163. – P. 1428-43.

4) Feng, Z. A human stool-derived *Bilophila wadsworthia* strain caused systemic inflammation in specific-pathogen-free mice [Text] / Z. Feng, W. Long, B. Hao, D. Ding, X. Ma, L. Zhao, X. Pang // Gut Pathog. – 2017. – Vol. 9.

### СКРИНИНГ ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ *ESCHERICHIA COLI* НА СПОСОБНОСТЬ ДЕКАРБОКСИЛИРОВАТЬ АМИНОКИСЛОТЫ

Лаврикова А.Л.<sup>2</sup>, Шегина Е.С.<sup>2</sup>, Ахова А.В.<sup>1,2</sup>, Ткаченко А.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Исчерпание природного топлива, увеличение выбросов CO<sub>2</sub> и глобальное потепление заставляют ученых искать новые способы получения химических веществ из возобновляемых ресурсов с помощью биотехнологических процессов. Одной из важнейших задач является разработка экологичного производства пластика [1]. Полиамины 1,5-

диаминопентан (кадаверин) и 1,4-диаминобутан (путресцин) используются в химической промышленности в качестве сырья для синтеза полиамидов – повсеместно используемых пластмасс [2]. При производстве путресцина и кадаверина в промышленных масштабах применяют высокотоксичные и легко воспламеняющиеся вещества, что может негативно сказаться на окружающей среде и здоровье человека. Этот процесс требует использования невозобновляемых ресурсов в качестве сырья, жестких условий реакции и дорогих каталитических систем. Таким образом, возникает необходимость разработки биотехнологического процесса производства полиаминов из возобновляемого сырья [3].

1,5-диаминопентан и 1,4-диаминобутан могут быть получены в результате микробиологического синтеза. Путресцин в клетках *Escherichia coli* может быть синтезирован двумя путями: 1) прямое декарбоксилирование орнитина при участии орнитиндекарбоксилазы, 2) декарбоксилирование аргинина аргининдекарбоксилазой с образованием агматина, который затем гидролизуеться агматинуреагидролазой до мочевины и путресцина. Кадаверин синтезируется в результате реакции декарбоксилирования лизина, катализируемой лизиндекарбоксилазой [4].

Целью данной работы является скрининг природных изолятов *Escherichia coli* на способность декарбоксилировать аргинин, орнитин и лизин.

Материалы и методы.

В качестве объектов исследования использованы 36 природных изолятов *Escherichia coli* и штамм *Escherichia coli* BW25141.

Для определения декарбоксилазной активности микроорганизмы культивировали на декарбоксилазном бульоне (ДК-бульон) с добавлением аминокислот (10 г/л L-лизина, L-аргинина или L-орнитина) по методу Мёллера. ДК-бульон является полноценной питательной средой, не содержащей изначально лизин, аргинин и орнитин. За счет наличия в составе ДК-бульона индикаторов pH бромкрезолового фиолетового и крезолового красного его цвет в процессе культивирования может изменяться от желтого (pH<7) до фиолетового (pH>7). Декарбоксилирование аминокислот бактериями приводит к накоплению полиаминов и защелачиванию среды культивирования, что сопровождается появлением фиолетовой окраски [5]. Культивирование проводили в лунках микропланшета (200 мкл культуры на лунку) при 37°C без перемешивания. Изменение окраски регистрировали каждый час в течение 6 часов. В качестве контроля бактерии параллельно выращивали на ДК-бульоне без добавления аминокислот.

Результаты и выводы.

Из 36 исследованных изолятов *Escherichia coli* лизиндекарбоксилазной активностью обладали 27 изолятов, аргининдекарбоксилазную активность проявляли 10 изолятов, а способность декарбоксилировать орнитин была выявлена у 20 изолятов.

Из всех исследованных изолятов только 4 были способны декарбоксилировать все три аминокислоты. 1 изолят проявлял лизиндекарбоксилазную и аргининдекарбоксилазную активность. Наиболее часто у природных изолятов встречалось сочетание лизиндекарбоксилазной и орнитиндекарбоксилазной активности (15 изолятов).

Способность декарбоксилировать лизин проявлялась уже на первый час культивирования у 18 изолятов, на второй час у 8 изолятов и на четвертый час у 1 изолята. Орнитиндекарбоксилазная активность регистрировалась после двух часов наблюдения у 7 изолятов, у 9 – на третий час, у 3 – на четвертый час культивирования и позже, в то время как способность декарбоксилировать аргинин проявлялась после четырех часов культивирования у 8 изолятов и у 2 изолятов на шестой час.

В результате работы были выявлены обладающие способностью декарбоксилировать лизин, аргинин и/или орнитин микроорганизмы, которые потенциально могут быть использованы в качестве продуцентов 1,5-диаминопентана и 1,4-диаминобутана.

Работа выполнена в рамках государственного задания номер госрегистрации темы: 01201353249.

### Библиографический список

1. Kind S. Systems-wide metabolic pathway engineering in *Corynebacterium glutamicum* for bio-based production of diaminopentane. / Kind S., Kyu Jeong W., Schroder H. // *Metabolic Engineering*. – 2010. – Vol. 12. – P. 341–351.
2. Chung H. Bio-based production of monomers and polymers by metabolically engineered microorganism. / Chung H., Eun Yang J., Yeon Ha J. // *Current Opinion in Biotechnology*. – 2015. – Vol. 36. – P. 73-84.
3. Qian Z.X. Metabolic Engineering of *Escherichia coli* for the Production of putrescine: A Four Carbon Diamine. / Qian Z.X., Xia X.X., Lee S.Y. // *Biotechnology and Bioengineering*. – 2009. – Vol. 104, No. 4. – P. 651-662.
4. Tabor C.W. Polyamines in Microorganisms. / Tabor C.W., Tabor H. // *Microbiological Reviews*. – 1985. – Vol. 49, No. 1. – P. 81-99.
5. Moeller V. Simplified tests for some amino acid decarboxylases and for the arginine dihydrolase system. / Moeller V. // *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica*. – 1955. – Vol. 36. – P. 158-172.

## РАЗРАБОТКА ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ ИХТИОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *FLAVOBACTERIUM*

Литасова А.С.<sup>1</sup>, Жуков И.В.<sup>2</sup>, Максимов А.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Инфекционные заболевания являются серьёзной угрозой в процессе разведения рыб и приносят значительный экономический ущерб рыбоводному хозяйству [1]. Раннее выявление и идентификация опасных ихтиопатогенов с помощью современных молекулярных методов является той мерой, которая позволяет быстро принять как профилактические, так и лечебные меры в аквакультуре [1,2].

Ранее разработаны тест-системы для ПЦР-идентификации ряда бактериальных патогенов, таких, как *Aeromonas* и др. [4-6]. Значимыми ихтиопатогенами являются также 3 вида основных флавобактерий, которые вызывают серьёзные заболевания рыб в аквакультуре и диких популяциях пресноводных рыб [2,3,5]. *Flavobacterium psychrophilum* вызывает бактериальное заболевание в холодной воде, что особенно проблематично для видов лососевых рыб (форели, лосося и др.). Первоначально бактерия была описана и извлечена в 1948 г [2].

Вторая бактерия, *F. columnare* – возбудитель столбчатой болезни, которая поражает многие виды рыб, обитающих в прохладной и теплой воде. Столбчатая болезнь представляет собой серьёзную проблему во всем мире и особенно актуальна для важных видов аквакультуры, различных видов аквариумных обитателей и рыб, обитающих в разных местах, где вспышки являются обычным явлением. Столбчатое заболевание, которое вызывало вспышки смертности среди различных рыб в тёплых водах в долине реки Миссисипи (США) впервые было описано Дэвисом в 1922 году. Хотя возбудитель болезни не был выделен в то время, о заболевании сообщалось на основании наблюдений за препаратами соскобов кожи, которые показали многочисленные тонкие бактериальные стержни, которые слипались вместе, образуя клеточные массы столбчатой формы; давшие название «столбчатая болезнь». Выделение возбудителя было произведено Ordal и Rucker (1944) из лосося (*O. nerka*). Часто наблюдаются коинфекции *F. psychrophilum* или *F. columnare* с другими патогенами рыб [2].



Бактериальная болезнь жабр (BGD) встречается у рыб с холодной и холодной водой и является преимущественно проблемой среди молоди лососевых, выращенных в бассейнах. Эта болезнь считается почти исключительно характерной для культивируемых рыб и не признается в качестве серьезной проблемы у диких рыб. О BGD впервые сообщил Дэвис (1926); однако возбудитель болезни был выделен только в 1978 году. Идентифицированная позднее бактерия получила название *F. branchiophilum* [2,3].

Цель работы: множественное сравнение последовательностей генов 16S рРНК ихтиопатогенных видов *Flavobacterium* для создания диагностической системы на основе полимеразной цепной реакции.

Объектом исследования являлись микроорганизмы, ассоциированные с пресноводными рыбами семейств карповых, лососевых и осетровых.

Культуры флавобактерий, ассоциированных с рыбами, были выделены на модификации агар Шедлера (пропись фирмы «Дифко», 1982) а также на вновь предложенных дифференциальных средах [7].

Проведен поиск в базе данных GENBANK на сайте Национального центра биотехнологической информации (NCBI) и отбор последовательностей 16S рДНК длиной от 1300 до 2000 п.н., характерных для разных видов *Flavobacterium*, в том числе *Flavobacterium psychrophilum*, *Flavobacterium columnare*, *Flavobacterium branchiophilum*, а также представителей различных других родов типа *Bacteroidetes*, а также протеобактерий. Преимущественно рассматривались последовательности, принадлежащие типовым штаммам, имеющим номер Американской коллекции типовых культур (ATCC). Выбранные последовательности были проанализированы с помощью приложения YACWGUI 1.3 и интерфейса ClustalW, выявлены генетические полиморфизмы, отличающие исследуемые виды бактерий от группы сравнения. Для проверки прогнозируемой специфичности праймеров был проведен BLAST-анализ с помощью сервиса Nucleotide BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

В результате множественного сравнения выбраны последовательности для конструирования видоспецифичных праймеров к видам:

*Flavobacterium psychrophilum*

FIPsF 5'-AGTCGAGGGTATGATTCTTCGGCAGCA

FIPsR 5'-ATAGCTACGAGTAGGTGTTTGACGGTACC

*Flavobacterium columnare*

FICoF 5'-AGTCGAGGGGTAGAAGGAGCTTGCTCCTTT

FICoR 5'- CCTCCCTTGTAAGGGAGCTTGACGGTACT

*Flavobacterium branchiophilum*

FIBrF 5'-TGCAAGTCGAGGGGTATAGTAGCAATACTA

FIBrR 5'- ACTTCTACGAGTAGAAGCTTGACGGTACT

По сконструированным последовательностям олигонуклеотиды были синтезированы фосфоамидитным методом на автоматическом синтезаторе ДНК ASM2000. Апробация на выделенных культурах показала специфичность полученных праймеров. Длина ампликона составляет 405 п.н. На основе полученных олигонуклеотидов планируется разработать способ детекции на основе ПЦР в реальном времени.

Работа выполнена в рамках НИР "Проведение молекулярно-генетических исследований и ранней диагностики инфекционных заболеваний рыб", ФЦП «Охрана озера Байкал и социально-экономическое развитие Байкальской природной территории на 2012 - 2020 годы».

#### Библиографический список

1. Грищенко, Л.И. Акбаев М.Ш., Васильков Г.В. Болезни рыб и основы рыбоводства: учебное пособие. – Москва: Колос, 1999. – 450 с.
2. Fish Diseases and Disorders, Volume 3:Viral, Bacterial and Fungal Infections, 2nd Edition. Edited by P Woo, University of Guelph, Canada, D Bruno, Marine Scotland, UK. – CABI, UK, 2011. – 944 p.

3. Good C., Davidson J., Wiens G.D, Welch T. J., Summerfelt S. *Flavobacterium branchiophilum* and *F. succinicans* associated with bacterial gill disease in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in water recirculation aquaculture systems // J Fish Dis. – 2015 Apr; – 38(4): – 409–413.

4. Белькова Н.Л., Дзюба Е.В., Клименко Е.С., Ханаев И.В., Деникина Н.Н. Детекция и генетическая характеристика бактерий рода *Pseudomonas* из микробных сообществ озера Байкал // Генетика. – 2018. – Т. 54 (5). – С. 512-523.

5. Дзюба Е.В., Деникина Н.Н., Пастухов В.В., Суханова Е.В., Белькова Н.Л. Разработка и апробация молекулярно-генетического способа диагностики патогенных микроорганизмов на внешних покровах рыб // Вода: химия и экология. – 2014. – № 2 (67). – С. 57-62.

6. Гоголевская Е.В., Максимов А.Ю. Конструирование праймеров для ПЦР-детекции бактерий *Vibrio anguillarum* // Химия. Экология. Урбанистика. – 2018. – №1. – С. 583-587

7. Семанин, А.Г., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. Конструирование дифференциально-диагностической среды для идентификации и первичной дифференциации бактерий рода *Flavobacterium* // Вестник Ульяновской гос. сельскохозяйств. академии: науч.-теор. журн. – Ульяновск: УлГАУ, 2018. – №1 (41). – С. 99-108.

## ПОИСК ШТАММОВ – АКТИВНЫХ БИОТРАНСФОРМАТОРОВ ОЛЕАНОЛОВОЙ КИСЛОТЫ

Лучникова Н.А.<sup>1</sup>, Мальцева П.Ю.<sup>1</sup>, Гришко В.В.<sup>2</sup>, Ившина И.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

Олеаноловая кислота (3β-гидрокси-олеан-12-ен-28-овая кислота, олеановая кислота, C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>, CAS: 508-02-1) – одна из наиболее распространенных природных пентациклических тритерпеновых кислот ряда олеанана. Данный тритерпеноид в большом (до 2,0 % сухого веса) количестве содержится в коре берёзы (*Betula alba*), плодах яблони (*Malus domestica*) и боярышника (*Crataegus sanguinea*), побегах золототысячника (*Centaureum erythraea*), мелиссы (*Melissa officinalis*), календулы (*Calendula officinalis*) и других двудольных растениях умеренного климатического пояса России.

Олеаноловая кислота перспективна для получения фармакологически ценных соединений с выраженной противовоспалительной, антидиабетической, гепатопротективной, противовирусной и противораковой активностью [1,2]. С этой целью применяют методы биоконверсии на основе ферментативной активности микроорганизмов, позволяющие осуществлять модификацию молекулы олеаноловой кислоты в позициях, труднодоступных для химических агентов, без использования агрессивных реагентов, с высокой степенью регио- и стереоселективности в одну технологическую стадию [3]. Однако известные процессы биотрансформации олеаноловой кислоты характеризуются невысоким (10 – 60 %) уровнем конверсии субстрата и имеют недостатки. Так, использование мицелиальных грибов (*Rhizomucor*, *Trichothecium*, *Circinella*) в качестве биокатализаторов потенциально опасно вследствие их спорового посевного материала и способности к синтезу микотоксинов, обладающих канцерогенным и мутагенным действием. Среди бактерий, используемых для биотрансформации олеаноловой кислоты и принадлежащих к *Streptomyces*, *Nocardia*, немало штаммов с выраженными патогенными свойствами. В связи с этим актуальным является поиск бактериальных штаммов, обладающих способностью к активной трансформации олеаноловой кислоты. Одной из интенсивно разрабатываемых в биотехнологии групп микроорганизмов являются непатогенные актинобактерии рода *Rhodococcus* [4]. Не

мицелиальный характер роста, широкий спектр каталитических возможностей, способность к выработке биосурфактантов, политрофность и лабильность метаболических систем обуславливают перспективность использования родококков для направленной биотрансформации олеаноловой кислоты.

На основе биоресурсов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, [www.iegmc01.ru](http://www.iegmc01.ru), номер во Всемирной федерации коллекции культур 768, реестровый номер Уникальной научной установки 73559) отобраны штаммы *R. jostii* ИЭГМ 60, *R. opacus* ИЭГМ 246, ИЭГМ 262, ИЭГМ 488, ИЭГМ 1157, *R. rhodochrous* ИЭГМ 66, ИЭГМ 107 и *R. ruber* ИЭГМ 324, катализирующие полную или частичную конверсию олеаноловой кислоты (500 мг/л) в присутствии *n*-гесадекана (0,1 об. %) в течение 7 сут. При этом отдельные штаммы (*R. opacus* ИЭГМ 488, *R. rhodochrous* ИЭГМ 66) проявляли высокую (> 80 %) биотрансформирующую активность при использовании олеаноловой кислоты в качестве единственного источника углерода и энергии.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 18-14-00140 и РФФИ № 18-34-00109 мол\_а.

#### Библиографический список

1. Ayeleso, T.B. Oleanolic acid and its derivatives: biological activities and therapeutic potential in chronic diseases / T.B. Ayeleso, M.G. Matumba, E. Mukwevho // *Molecules*. – 2017. – V. 22, N. 11. – P. 1915–1931.
2. Xiao, S. Recent progress in the antiviral activity and mechanism study of pentacyclic triterpenoids and their derivatives / S. Xiao [et al.] // *Med. Res. Rev.* – 2017. – V. 38, N. 3. – P. 951–976.
3. Muffler, K. Biotransformation of triterpenes / K. Muffler [et al.] // *Process Biochem.* – 2011. – V. 46, N. 1. – P. 1–15.
4. Alvarez, H.M. *Biology of Rhodococcus* (second edition) / H.M. Alvarez. – Springer Nature Switzerland AG. – 2019. – 386 p.

## ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА КЛЕТочный ЗАРЯД РОДОКОККОВ

Макарова М.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., профессор Куюкина М.С.**

Методом динамического и электрофоретического светорассеяния определены размеры и электрокинетический (дзета-) потенциал наночастиц (НЧ) металлов Bi, Co, CuO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Ni и исследовано их воздействие на поверхностный заряд актинобактерий рода *Rhodococcus*. Установлена сильная положительная корреляция значений дзета-потенциала и индекса полидисперсности НЧ металлов. Изменение заряда клеточной стенки родококков под воздействием НЧ имеет разнонаправленный характер.

Наночастицы (НЧ) металлов широко используются в медицине и технике и имеют огромный потенциал в области биотехнологии. НЧ обладают рядом уникальных свойств: большой удельной поверхностью, адсорбционной активностью, способностью к агрегации и аккумуляции, которые обеспечивают высокую реакционную и каталитическую способности [2]. Используемые в биотехнологии НЧ имеют размеры от 10 до 500 нм, редко превышающие 700 нм [5]. Актинобактерии рода *Rhodococcus* перспективны для биоразложения сложных органических загрязнителей, таких как углеводороды нефти, и эффективно применяются в биоремедиации загрязненных экосистем [4]. Поверхностный

заряд бактерий определяется составом макромолекул клеточной стенки и формируется путем ионизации фосфатных, карбоксильных или аминогрупп и адсорбции ионов из раствора [3].

Цель исследования – определение влияния НЧ металлов на электрокинетический потенциал клеток родококков.

В работе использовали культуры *R. erythropolis* ИЭГМ 344, ИЭГМ 661, ИЭГМ 693, ИЭГМ 706, ИЭГМ 766, *R. fascians* ИЭГМ 173, ИЭГМ 525, ИЭГМ 531, ИЭГМ 534, ИЭГМ 1218, *R. jostii* ИЭГМ 60, ИЭГМ 68, ИЭГМ 458, ИЭГМ 508, ИЭГМ 550, *R. rhodochrous* ИЭГМ 757, ИЭГМ 1161, ИЭГМ 1162, ИЭГМ 1360, ИЭГМ 1362, *R. ruber* ИЭГМ 628, ИЭГМ 1121, ИЭГМ 1135, ИЭГМ 1217, ИЭГМ 1352 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ; WDCM #768; <http://iegmcol.ru/>) и НЧ Bi, Co, CuO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и Ni в водном растворе, стабилизированном β-циклодекстрином (ООО «М9», Тольятти). НЧ использовали в десятикратных концентрациях (0,001 – 1,0 г/л), перед измерениями дважды промывали 10 мМ KNO<sub>3</sub> и диспергировали с помощью ультразвукового гомогенизатора Soniprep 150 (MSE, Великобритания). Бактерии, выращенные на МПА, суспендировали в 10 мМ KNO<sub>3</sub> до значения оптической плотности (OD<sub>600</sub>), равной 0,5. Размер НЧ и их электрокинетический потенциал, а также заряд бактериальных клеток измеряли методами динамического и электрофоретического рассеяния света с помощью анализатора ZetaSizer Nano ZS (Malvern Instruments, Великобритания).

В результате исследования определены следующие размерные показатели НЧ: Bi – 60±35, CuO – 175±54, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> – 189±9, Ni – 339±62, Co – 343±27 нм. При этом для НЧ меньшего размера был характерен более широкий диапазон размерных значений, что может быть следствием их более интенсивной агрегации [1]. Электрокинетический потенциал НЧ металлов составлял от -19 до -36 мВ, также выявлено понижение заряда до полутора раз при увеличении концентрации НЧ. Обнаружена сильная прямая корреляция значений заряда НЧ и показателей полидисперсности (PDI – Polydispersity Index). Так монодисперстные НЧ с высоким PDI характеризовались низким электрокинетическим потенциалом (рис. 1).

По нашим данным, добавление НЧ Bi в концентрации 0,001 г/л незначительно (до 10%) изменяло клеточный заряд родококков. Повышение концентрации НЧ до 0,01–0,1 г/л оказывало сильное разнонаправленное действие на электрокинетический потенциал клеток. Интересно, что при максимальной (1,0 г/л) концентрации НЧ Bi заряд бактерий приближался к значению заряда НЧ металла. Аналогичные изменения дзета-потенциала родококков выявлены под воздействием наночастиц Co, CuO и Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. В то же время, взаимодействие клеток *R. erythropolis*, *R. fascians* и *R. ruber* с НЧ Ni вызывало постепенное повышение электрокинетического потенциала бактериальных клеток. У представителей *R. jostii* и *R. rhodochrous* при низких концентрациях НЧ Ni выявлено незначительное понижение дзета-потенциала, а при высоких – постепенное повышение до значений, равных заряду НЧ (рис. 2). В целом, НЧ Bi, Co, CuO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> преимущественно понижали (на 44%-56%) клеточный заряд родококков, а НЧ Ni, наоборот, увеличивали его до 60%.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что НЧ металлов разнопланово влияют на электрокинетический потенциал родококков. При максимальной (1,0 г/л) концентрации НЧ заряд клеточной стенки принимает значения, близкие к зарядам НЧ, что свидетельствует об активной аккумуляции НЧ металлов на поверхности клеток. Для функционализации клеток отобраны штаммы *R. erythropolis* ИЭГМ 693, *R. rhodochrous* ИЭГМ 1162 и *R. jostii* ИЭГМ 458, для которых характерны наиболее выраженные изменения заряда под действием НЧ металлов. Следует отметить, что наибольшую активность проявляли НЧ Co и CuO, уменьшая клеточный заряд, в то время как НЧ Ni способствовали его повышению, а НЧ Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> и Bi характеризовались разнонаправленностью воздействия.

Работа выполнена в рамках госзадания 6.3330.2017/4.6. при поддержке гранта РФФ 18-14-00140.

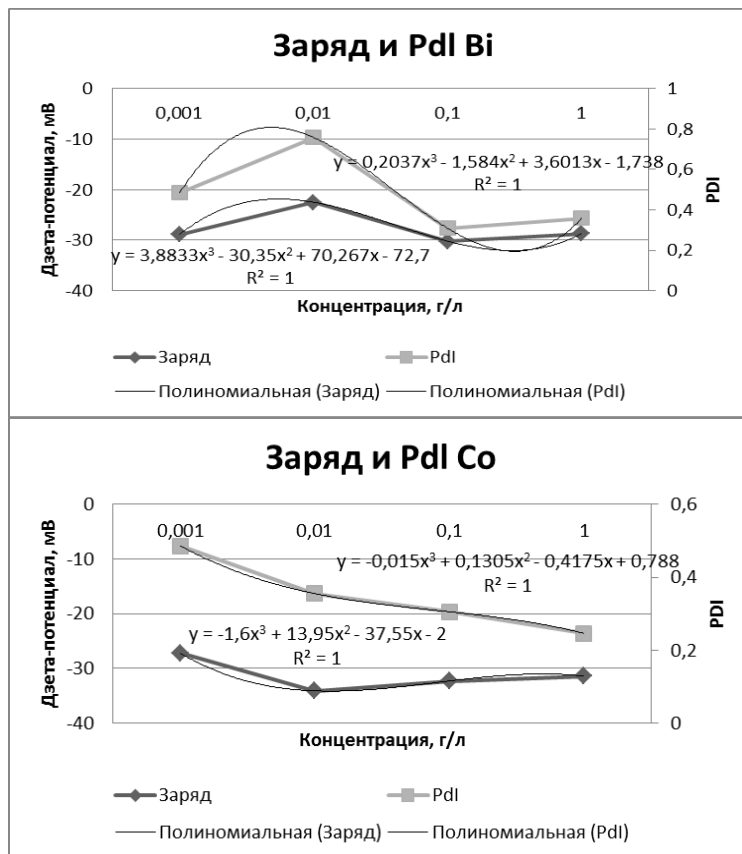


Рис. 1. Зависимость заряда НЧ металлов от PDI

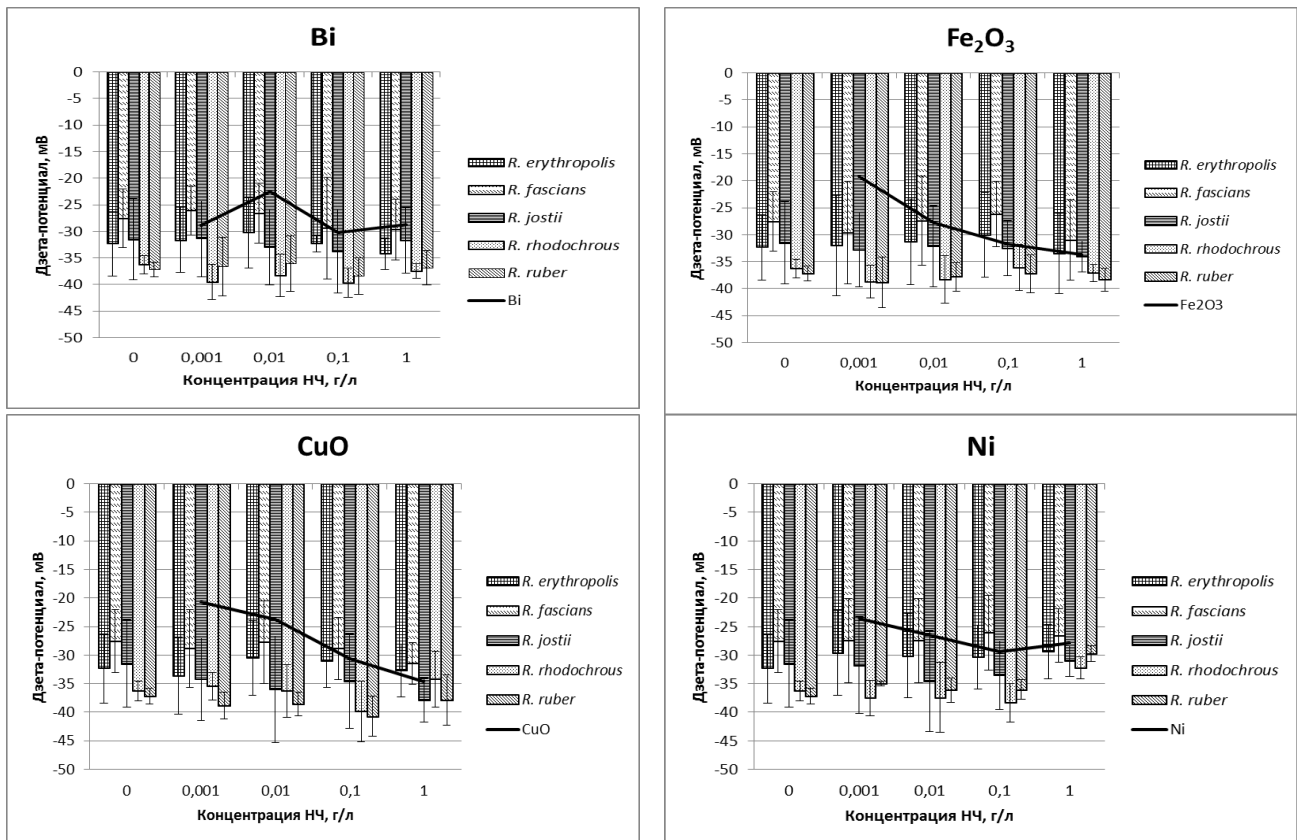


Рис. 2. Изменение клеточного заряда родококков при разных концентрациях НЧ

### Библиографический список

1. Аббасов Х.Ф., Сулейманов Б.А. Влияние агрегации наночастиц на теплопроводность нанофлюидов // Ж. физ. химии. 2016, Т. 90. С. 240-248.
2. Андрусичина И.Н. Наночастицы металлов: способы получения и оценка токсичности//Сучасні проблеми токсикології, 2011. №3, С.5-14.
3. Klodzińska E., *et al.* Effect of zeta potential value on bacterial behavior during electrophoretic separation // Electrophoresis. 2010. P. 1590–1592.
4. Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Application Bioremediation of contaminated environments using *Rhodococcus* // In: Biology of *Rhodococcus*. Microbiology Monographs / Ed. A. Steinbüchel. Springer, 2019. V. 16. P. 231-270.
5. Mody V.V., Siwale R., Singh A., and Mody H.R., Introduction to metallic Nanoparticles// J. Pharm. Bioallied. Sci., Vol. 2, No. 4, 2010. – P. 282-289.

## УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ И СОЛЯМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ СТАФИЛОКОККОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ НАЗЕМНЫХ СОЛЯНЫХ СООРУЖЕНИЙ

Маммаева М.Г.<sup>1</sup>, Коноплева М.А.<sup>2</sup>, Нестерова Л.Ю.<sup>3</sup>, Кузнецова М.В.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава РФ, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> МАОУ «Лицей №2», г. Пермь, Россия

<sup>3</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

Фенотипическое разнообразие и высокий адаптационный потенциал бактерий рода *Staphylococcus* способствуют их выживанию под действием неблагоприятных условий и сохранению в окружающей среде, в том числе в подземных и наземных соляных сооружениях [1]. Значительная часть различий между стафилококками обусловлена набором факторов патогенности, антибиотикорезистентности и устойчивости к тяжелым металлам. Биологическую толерантность бактерии приобретают в результате селективного действия антибактериальных препаратов, или длительного контакта с тяжелыми металлами в почве и воде. Проблема резистентности микроорганизмов достаточно хорошо изучена в аспекте снижения чувствительности к антибиотикам. Значительно меньше исследованы механизмы устойчивости к тяжелым металлам, а также распространенность этого феномена среди стафилококков. Актуальной, также, является проблема перекрестной устойчивости бактерий к антибиотикам и тяжелым металлам, поскольку штаммы, обладающие такими свойствами, могут представлять серьезную проблему для общественного здравоохранения [2-4].

Целью данной работы было изучить чувствительность к антибактериальным препаратам и солям натрия, калия и тяжелых металлов штаммов стафилококков, изолированных с соляных поверхностей сильвинитовых и галитовых сооружений.

Объектами исследования служили штаммы рода *Staphylococcus* (n=26), выделенные из соляных сооружений Пермского края в период 2017-18 гг. Бактериологическое исследование микроорганизмов проводили согласно Приказу МЗ СССР №535 от 94 22.04.1985 г. Идентификацию стафилококков осуществляли с использованием диагностического набора «СТАФИтест 24». О чувствительности бактерий к присутствию в среде натрия, калия и тяжелых металлов судили по минимальной подавляющей концентрации (МПК) и минимальной бактерицидной концентрации (МБК) солей этих металлов. МПК определяли методом серийных разведений в 96-луночных полистироловых плоскодонных планшетах.

Культуры выращивали на LB-бульоне в присутствии NaCl и KCl в диапазоне концентраций 1-5 М с шагом 0,5 и солей цинка (ZnSO<sub>4</sub>), марганца (MnSO<sub>4</sub>), меди (CuSO<sub>4</sub>), свинца (PbSO<sub>4</sub>), никеля (NiSO<sub>4</sub>) и кадмия (CdCl<sub>2</sub>) в диапазоне концентраций 0,05-100 мМ с шагом 2,0. МБК устанавливали высевами на твердую питательную среду из лунок планшетов. Определение чувствительности штаммов к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузионным методом согласно МУК 4.2.1890-04 и клиническим рекомендациям «Определение чувствительности ...» (МАКМАХ, Версия-2015-02).

Установлено, что показатель МПК солей в отношении штаммов стафилококков в большинстве случаев составлял 3,5 М: в присутствии 3 М NaCl рост наблюдался у 80,8% штаммов, 3 М KCl – 96,2%. При этом МПК 4 М в присутствии KCl была выявлена в 46,2%, тогда как для NaCl – только в 15,4% случаев ( $p < 0,05$ ). В то же время МБК солей натрия и калия определить не удалось, поскольку максимально возможные для растворов этих солей концентрации (5 М) не оказывали бактерицидного действия на большую часть стафилококков.

Анализ антибиотикограмм показал, что 16 (61,5%) штаммов были устойчивыми к макролидам – эритромицину и азитромицину. Маркером чувствительности стафилококков к  $\beta$ -лактамам антибиотикам считается оксациллин, к которому были устойчивы три культуры коагулазоотрицательных стафилококков, а одна из них, *S. warneri*, была резистентна еще к ципрофлоксацину и тетрациклину. К клиндомицину, ванкомицину, аминогликазидам (амикацину и гентамицину), левофлоксацину были чувствительны все исследованные штаммы.

Изучение устойчивости бактерий к тяжелым металлам показало, что МПК их солей по отношению к стафилококкам варьировала в широком диапазоне концентраций (от 0,05 до 25,0 мМ). Наименьшее ингибирующее действие на бактерии оказывали Mn, Cu и Ni – более 95% штаммов росли в присутствии 1,56 мМ солей этих металлов в среде. Между показателями МПК Mn/Cu, Mn/Ni и Cu/Ni выявлена умеренная положительная связь ( $r = 0,325$ ;  $0,329$  и  $0,583$  соответственно;  $p < 0,05$ ). Интересно, что ZnSO<sub>4</sub> в данной концентрации подавлял рост 100% штаммов. Доля стафилококков, устойчивых к 0,39 мМ соли Zn составила более 80%. Как и следовало ожидать, наиболее токсичным оказался Cd: только 2 (7,7%) штамма росли в присутствии его соли в концентрации выше 0,2 мМ, в то время как у 15 (57,7%) культур рост ингибировался уже при 50 мкМ. Для выявления связи между антибиотикоустойчивостью и резистентностью к солям тяжелых металлов, штаммы распределили в две группы – устойчивые и чувствительные к макролидам. Оказалось, что среди последних чаще встречались толерантные к высоким концентрациям Zn (75 vs 90%), Mn (6,3 vs 50%;  $p = 0,011$ ) и Pb (62,5 vs 90%), но реже – устойчивые к Cd (43,8 vs 10%).

Заключение. Изучены чувствительность к антибиотикам, солям натрия, калия и тяжелых металлов стафилококков, выделенных с абиотических поверхностей наземных соляных сооружений. Несмотря на ингибирующее действие солей натрия и калия (в меньшей степени) на рост бактерий в жидкой среде, МБК для большинства культур была более 5 М. Большое количество культур оказались устойчивыми к макролидам, и три – к оксациллину, что указывает на их антропогенное происхождение. Из общего количества штаммов более 95% были резистентны к солям пяти тяжелых металлов в концентрации 200 мкМ. Устойчивые к макролидам культуры показывали большую толерантность в присутствии в среде соли Cd. Видовые особенности позволяют стафилококкам выживать и длительно персистировать в экстремальных условиях соляных сооружений, что имеет как общебиологическое, так и эколого-эпидемиологическое значение.

*Работа выполнена в рамках государственного задания №01201353247.*

#### **Библиографический список**

1. Goldan T., Danciu C., Nistor C. Touristic and medical facilities in Romanian salt mine cavities // Res. J. Agricul. Sci. 2010. V. 42(3). P. 579–586.

2. Chudobova D., Dostalova S., Blazkova I. et al. Effect of ampicillin, streptomycin, penicillin and tetracycline on metal resistant and non-resistant *Staphylococcus aureus* // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2014. V. 11. P. 3233–3255.

3. Adekanmbi A.O., Falodun O.I. Heavy metals and antibiotics susceptibility profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from several points receiving daily input from the Bodija abattoir in Ibadan, Oyo state, Nigeria // Adv. Microbiol. 2015. V. 5. P. 871–880.

4. Xue H, Wu Z, Li L, Li F, Wang Y, Zhao X. 2015. Coexistence of heavy metal and antibiotic resistance within a novel composite staphylococcal cassette chromosome in a *Staphylococcus haemolyticus* isolate from bovine mastitis milk // Antimicrob. Agents Chemother. V. 59. P. 5788–5792.

## **ВЛИЯНИЕ pH И КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРИДА НАТРИЯ НА РОСТ НИТРИЛГИДРОЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ГРУНТА ТЕРРИТОРИЙ СТАРОГО СОДОВОГО ШЛАМОХРАНИЛИЩА**

Мулазянова Э.Э., Максимова Ю.Г.

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*

В последние годы микроорганизмы, обитающие в экстремальных условиях, находятся в центре внимания исследователей. Выделенные из экстремальных экологических ниш микроорганизмы хорошо адаптированы к неблагоприятным факторам окружающей среды и обладают огромным биотехнологическим потенциалом. Наиболее перспективно применение синтезируемых экстремофилами биологически активных соединений в медицине, косметологии, пищевой промышленности [1]. В основном, объектом изучения является микробиота природных содовых озер, тогда как щелочные биотопы антропогенного происхождения практически не исследованы. Ранее коллективом лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии «Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» был выполнен метагеномный анализ микробиома содового шламоохранилища предприятия ОАО «Березниковский содовый завод» [2]. В то же время имеются лишь единичные публикации, посвященные нитрилгидролизующим алкалофильным микроорганизмам [3].

Целью настоящей работы явилось выделение бактерий, утилизирующих ацетамид или ацетонитрил как единственный источник углерода, и изучение влияния pH и концентрации хлорида натрия на рост выделенных бактериальных изолятов.

Объектом исследования являлось содовое озеро антропогенного происхождения, расположенное на северо-западной окраине г. Березники Пермского края. Отбор проб воды и грунта проводили в сентябре 2017 г. Пробы отбирали на месте техногенных поверхностных образований осушенного содового озера с поверхности (ССОП), а также на глубине 5 см (ССОЗ<sub>5</sub>) и 10 см (ССОЗ<sub>10</sub>).

Из проб, взятых с территории содового озера г. Березники были выделены бактериальные изоляты на агаризованной минеральной среде (pH 7,2 и 0,05% NaCl) с 10 мМ ацетамидом или 0,25% ацетонитрилом в качестве единственных источников углерода и азота.

Изучали накопление биомассы выделенных изолятов при росте на среде с pH 9 и 11, а также с содержанием NaCl от 0,5 до 200 г/л. Урожай биомассы выражали в мг/мл сухих клеток. Результаты показаны на диаграммах (Рис. 1, 2). Особый интерес представляли изоляты ССОЗ<sub>33</sub>(ацд), ССОЗ<sub>10</sub>1(ацд), ССОЗ<sub>32</sub>(ацд), ССОЗ<sub>31</sub>(ацн), урожай биомассы которых был максимален при высоких pH и концентрациях солей. Источником выделения таких



штаммов служили содовые осадки и грунты шламохранилища, имеющие рН 8-11 и содержащие Са и Na в концентрации 743,6 и 2,2 г/кг соответственно.

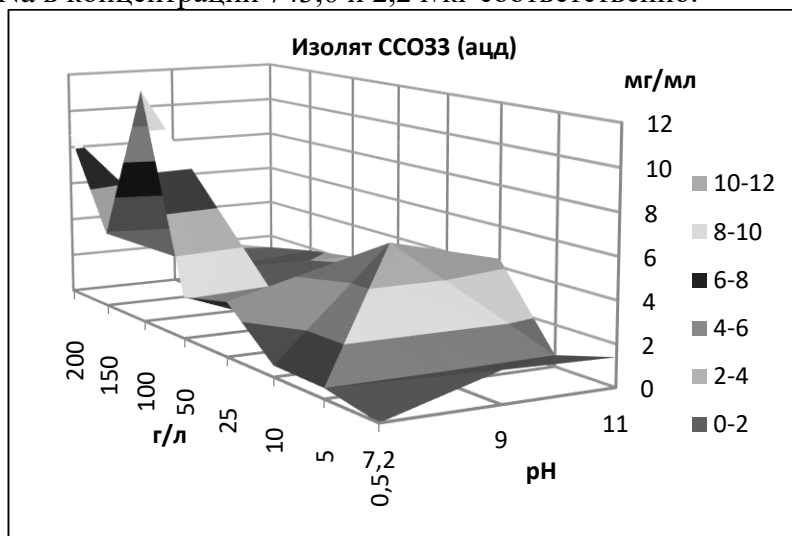


Рис.1. Урожай биомассы (мг/мл) изолята ССОЗ3(ацд), выращенного на среде с ацетамидом при рН 7-11 и концентрациях хлорида натрия 0,5-200 г/л

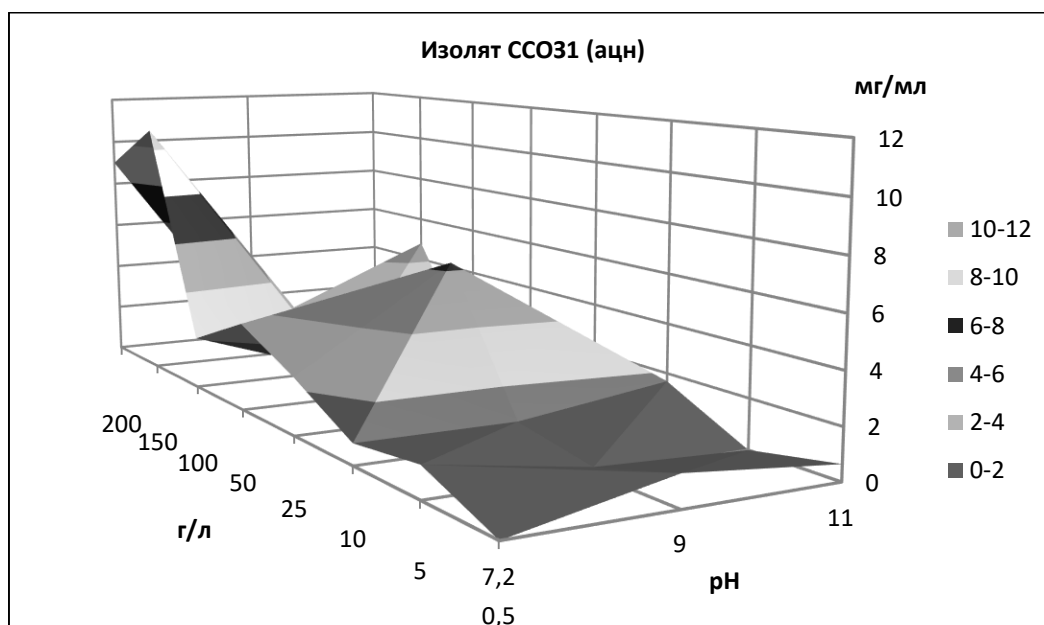


Рис. 2. Урожай биомассы (мг/мл) изолята ССОЗ1 (ацн), выращенного на среде с ацетонитрилом при рН 7-11 и концентрациях хлорида натрия 0,5-200 г/л

Определена амидазная и нитрилгидратазная активность изолятов при трансформации акриламида и акрилонитрила соответственно. Наибольшую нитрилгидратазную активность, равную 5,335 мкмоль/мг/мин, проявил изолят ССОЗ<sub>5</sub>2 (Таблица 1).

Некоторые изоляты были идентифицированы методом секвенирования гена 16S рРНК (Таблица 2). Изолят ССОЗ<sub>10</sub>1(ацд), накапливающий максимальную биомассу при высоких концентрациях солей, относится к роду *Rhizobium*, а среди ацетонитрилгидролизующих бактерий был идентифицирован изолят ССОЗ<sub>1</sub>(ацн), который был отнесен к роду *Pseudomonas*.

Таблица 1

## Ферментативная активность выделенных изолятов

Название штамма	Фермент	Удельная активность, мкмоль/мг/мин
ССОЗ <sub>104</sub>	Амидаза	0,036
ССОЗ <sub>103</sub>	Амидаза	0,054
ССОЗ1	Амидаза	0,045
ССОЗ <sub>102</sub>	Амидаза	0,033
ССОЗ <sub>101</sub>	Амидаза	0,005
ССОЗ3	Амидаза	0,019
ССОЗ2	Амидаза	0,008
ССОЗ <sub>52</sub>	Нитрилгидратаза	5,335

Таблица 2

## Идентификация изолятов

Изолят	Типовой штамм	Сходство, %	Количество прочтенных нуклеотидов
ССОЗ1 (ацн)	<i>Pseudomonas extremaustralis</i> 14-3(T)	100	795
ССОЗ1 (ацд)	<i>Rhizobium radiobacter</i> ATCC 19358(T)	100	832
ССОЗ <sub>101</sub> (ацд)	<i>Rhizobium</i> sp. CP002249_s	100	792
ССОП1 (ацд)	<i>Acinetobacter</i> sp. KB976986_s	99,87	768

## Библиографический список

1. Морозкина Е.В. и др. Экстремофильные микроорганизмы: биохимическая адаптация и биотехнологическое применение // Прикл. биохим. микробиол. 2010. Т. 46, №1. С.5–20.
2. Шилова А.В. и др. Метагеномный анализ родového состава бактериальной флоры грунта, воды и осадков нового и старого шламохранилища ОАО «Сода» (г. Березники, Пермский край) // Биомика. 2018. Т. 10, № 1. С. 24–27.
3. Sorokin D.Yu. et al. Acetonitrile degradation under haloalkaline conditions by *Natronocella acetinitrilica* gen. nov., sp. nov. // Microbiology. 2007. V. 153. P. 1157–1164.

## ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ РИБОНУКЛЕАЗЫ *BACILLUS LICHENIFORMIS* И ОЦЕНКА ЕЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Надырова А.И., Сурченко Ю.В., Ульянова В.В.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ИФМиБ, г. Казань, Россия

В настоящее время перспективным объектом в области разработки новых противоопухолевых препаратов, характеризующихся таргетным действием и низкой цитотоксичностью по отношению к здоровым клеткам, являются рибонуклеазы (РНКазы). Бактериальные РНКазы семейства N1/T1/U2 проявляют как противоопухолевое, так и противовирусное действие [1, 2]. Ранее нами был получен гомогенный препарат аутентичной РНКазы *Bacillus licheniformis* - балифазы [3]. Целью данной работы явилось получение гомогенных препаратов рекомбинантной балифазы, несущей полигистидиновую метку на N- или C-конце, а также оценка их цитотоксичности по отношению к нормальным и онкотрансформированным клеткам эпителия легкого.

Балифазу с N- или C-концевой полигистидиновой меткой выделяли из периплазматической фракции рекомбинантного штамма-продуцента *Escherichia coli*

Lemo21(DE3). Полученные фракции периплазмы подвергали тандемной жидкостной хроматографии высокого давления с использованием колонки, заполненной никель-хелатным аффинным сорбентом «Profinity IMAC» и сопряженной с колонкой, заполненной сорбентом «Bio-Gel P-6» для обессоливания. Полученные фракции балифазы анализировали с помощью электрофореза белков в денатурирующих условиях и Вестерн-блот анализа. Исследование цитотоксичности препаратов проводили на линии клеток аденокарциномы легкого человека A549 и линии клеток эпителия легкого эмбриона коровы ЛЭК. Жизнеспособность клеток оценивали по активности митохондриальных редуктаз в МТТ-тесте.

Полученные препараты рекомбинантной балифазы были электрофоретически гомогенны. Балифаза с N-концевой полигистидиновой меткой, как и аутентичная балифаза, оказывала избирательное цитотоксическое действие по отношению к клеткам A549: в концентрациях 100 и 300 мкг/мл РНКазы снижала жизнеспособность клеток A549 через 24 ч на 20 и 40%, соответственно, существенно не влияя при этом на нормальные клетки ЛЭК; через 48 ч эффект усиливался на 5-10%. Балифаза с полигистидиновой меткой на C-конце в концентрации 100 мкг/мл уже через 24 ч снижала жизнеспособность как нормальных, так и трансформированных клеток на 45%, а через 48 ч – на 80%. Следовательно, модификация C-конца балифазы ведет к значительному увеличению цитотоксичности. Дальнейшее изучение балифазы позволит расширить спектр перспективных препаратов для терапии различных онкологических и вирусных заболеваний.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №17-00-00060 и гранта РФФИ №18-74-00108.*

#### **Библиографический список**

- [1] Makarov A.A., Kolchinsky A., Ilinskaya O.N. Binase and other microbial RNases as potential anticancer agents // Bioessays. 2008. V. 8. P. 781-790.
- [2] Shah Mahmud R., Ilinskaya O.N. Antiviral activity of binase against the pandemic influenza A (H1N1) virus // Acta Naturae. 2013. V. 5. P. 44–51.
- [3] Sokurenko Y., Nadyrova A., Ulyanova V., Ilinskaya O. Extracellular Ribonuclease from *Bacillus licheniformis* (Balifase), a New Member of the N1/T1 RNase Superfamily // BioMed Research International. 2016. V. 2016. Article ID 4239375.

## **ВЛИЯНИЕ БИОГЕННЫХ ПОЛИАМИНОВ НА МЕЖКЛЕТОЧНУЮ КОММУНИКАЦИЮ БАКТЕРИЙ**

Негорелова Е.В.<sup>1,2</sup>, Нестерова Л.Ю.<sup>1,2</sup>, Ткаченко А.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

Формирование биопленок клинически значимыми бактериями и связанное с этим возрастание их антибиотикорезистентности является актуальной проблемой современной медицины и микробиологии. В связи с этим существует необходимость изучения причин, которые приводят к формированию биопленок, интенсификации этого процесса, а также поиска новых способов воздействия на механизмы развития и регуляции биопленкообразования.

Известно, что процессы биопленкообразования бактерий контролируются системами межклеточной коммуникации Quorum Sensing (QS). Это особый тип внутри- и межвидовой передачи сигналов, который зависит от плотности бактериальной популяции и осуществляется посредством сигнальных молекул – аутоиндукторов (АИ). АИ могут восприниматься другими клетками и обеспечивают согласованную экспрессию генов, запуская синтез ряда метаболитов, способствующих выживанию микроорганизмов в окружающей среде. В качестве аутоиндукторов QS систем бактериями используется большое разнообразие низкомолекулярных соединений [1].

Известно, что на процессы биопленкообразования и роста могут оказывать влияние биогенные полиамины – клеточные поликатионы, выполняющие регуляторные и защитные функции при адаптации бактерий к различным неблагоприятным воздействиям. Однако механизмы влияния полиаминов на эти процессы до конца не выяснены. Показано, что полиамины способны оказывать действие на экспрессию некоторых генов, которые объединены в так называемый «полиаминовый модулон» и список этих генов постоянно пополняется.

Целью работы является изучение влияния биогенных полиаминов на биопленкообразование и продукцию АИ-1 и АИ-2 грамотрицательных микроорганизмов.

В качестве объекта исследования использованы штаммы *Escherichia coli* K12 (продуцент АИ-2), *Vibrio harveyi* BB120, (продуцент АИ-2 и АИ-1), *V. harveyi* BB170 (сенсор АИ-2) и *V. harveyi* BB886 (сенсор АИ-1). Штаммы-продуценты выращивали на среде LB с добавлением 2% NaCl для *V. harveyi* и полиаминов путресцина, кадаверина, спермидина и спермина в соответствующих вариантах. Сенсорный штамм культивировали на среде АВ [2]. Анализ активности АИ-2 проводили биолюминесцентным методом путем добавления 10% бесклеточного супернатанта культуры штамма-продуцента к сенсорной культуре [3]. Концентрацию полиаминов определяли методом тонкослойной хроматографии их дансилпроизводных. Биопленкообразование оценивали при росте на 96-луночных полистироловых планшетах с последующим окрашиванием генцианвиолетом.

Установлено, что присутствие в среде культивирования путресцина, кадаверина, спермидина и спермина в концентрациях 0,1-5мМ не оказывало значительного влияния на ростовые характеристики культур *E. coli* и *V. harveyi*. В то же время, добавка в среду культивирования полиаминов приводила к возрастанию способности *V. harveyi* формировать биопленки. Стимулирующий концентрационно-зависимый эффект наблюдался в присутствии в среде всех исследованных полиаминов, однако наибольший эффект оказывал спермин, который увеличивал биопленкообразование в 2,5 раза. Ранее подобный эффект полиаминов мы наблюдали в отношении *E. coli*. Таким образом, биогенные полиамины оказывают стимулирующее действие на биопленкообразование *E. coli* и *V. harveyi*.

Многие, преимущественно грамотрицательные бактерии, способны синтезировать полиамины путресцин, кадаверин и спермидин, в то время как спермин, в основном, продуцируется эукариотическими организмами, но может транспортироваться в клетки прокариот. Нами показано, что *V. harveyi* в условиях роста на полноценной питательной среде продуцирует и накапливает путресцин, спермидин и кадаверин в концентрациях 5,3; 5,4 и 53,8 мкмоль/мг сырой биомассы соответственно. Внутриклеточное содержание спермина у *V. harveyi* после 6 часов культивирования на среде с добавкой 1 мМ этого полиамина достигает значения 20 мкмоль/мг сырой биомассы.

В качестве индуктора системы QS 1 типа микроорганизмы используют различные N-ацил-гомосеринлактоны. Установлено, что супернатанты, полученные из культур, выращенных в присутствии путресцина, кадаверина, спермидина или спермина обладали повышенной QS активностью. Наибольший стимулирующий эффект на продукцию АИ-1 оказывал спермин, добавка которого в среду культивирования в концентрации 5мМ увеличивала люминесценцию сенсорного штамма в 6 раз по сравнению с контролем.

При исследовании влияния биогенных полиаминов на функционирование системы QS 2 типа наблюдалось стимулирующее влияние на продукцию АИ-2. Усиление продукции

этого аутоиндуктора в присутствии полиаминов имело место как в культуре *V. harveyi*, так и *E. coli*. Выраженность эффекта возрастала в ряду путресцин-кадаверин-спермидин-спермин и максимальное увеличение составляло 400%.

Таким образом, *V. harveyi* может синтезировать и накапливать в клетках значительные концентрации полиаминов путресцина кадаверина и спермидина, в то время как спермин может поступать в клетку путем транспорта из среды. Биогенные полиамины стимулируют биопленкообразование *V. harveyi*. Влияние ПА на этот процесс может быть обусловлено стимулирующим действием этих соединений на продукцию клетками сигнальных молекул АИ-1 и АИ-2, посредством которых осуществляется процесс как внутри- так и межвидовой коммуникации и регулируются многие клеточные процессы, в том числе переход к формированию биопленки.

*Исследование выполнено в рамках госзадания, номер госрегистрации темы 01201353249*

#### **Библиографический список**

1. Miller M.B., Bassler B.L. Quorum sensing in bacteria // Annu.Rev. Microbiol. USA 2001 Vol. 5., P 165-199.
2. Taga M.E., Bassler B.L. Chemical communication among bacteria // PNAS. USA. 2003. Vol. 100. P. 14549–14554.
3. Пшеничнов Р.А., Масленникова И.Л., Никитина Н.М. Экзометаболическая регуляция роста и свечения бактерий *Vibrio harveyi* BB170 при разной плотности популяции // Вестник пермского университета. Серия: Биология. 2010. №2. С. 15-18.

## **ИЗУЧЕНИЕ СИМБИОТИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕФТЕРАЗЛАГАЮЩИХ БАКТЕРИЙ *ALCANIVORAX BORKUMENSIS* И ПОЧВЕННЫХ НЕМАТОД *CAENORHABDITIS ELEGANS* В СИСТЕМЕ ХОЛОБИОНТА**

Нигаматзянова Л.Р., Фахруллина Г.И., Шайхулова С.Ф., Ахатова Ф.С.,  
Фахруллин Р.Ф.

*ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия*

Одной из главных экологических проблем является загрязнение нефтью и нефтепродуктами в результате деятельности, связанной с нефтехимической промышленностью [1]. Известно, что биodeградация углеводов естественными популяциями микроорганизмов позволяет превращать опасные вещества в менее токсичные формы и представляет собой один из основных механизмов, с помощью которых нефтепродукты удаляются из окружающей среды [2]. Целью работы является исследование взаимодействия нематод *Caenorhabditis elegans* с углеводородокисляющими бактериями *Alcanivorax borkumensis* SK2 в системе «хозяин-микробиота». Было проведено исследование морфологии бактерий-нефтедеструкторов *A. borkumensis*, установлено, что *A. borkumensis* являются палочковидными, неподвижными, грамотрицательными бактериями диаметром 0.5 мкм. (Рис.1).

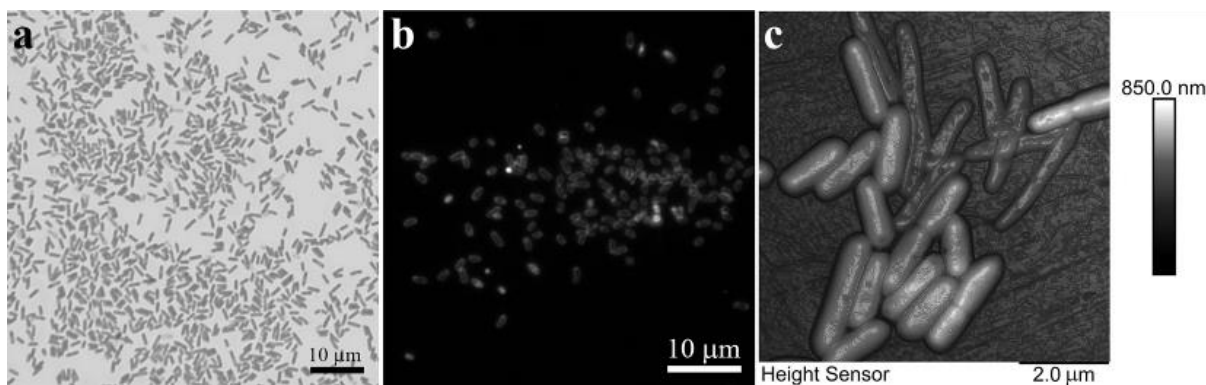


Рис. 1. Микрофотографии, демонстрирующие морфологию бактерий *A. borkumensis*: а) оптическое изображение бактерий, окрашенных по Граму; б) темнопольное изображение; в) АСМ-изображение в режиме PeakForce Tapping.

Анализ хемотаксиса был проведен для оценки пищевого предпочтения нематод с использованием бактерий *A. borkumensis*, *E. coli* и оксида графена. Нематоды перемещались в сторону бактериальной пищи *E. coli* или *A. borkumensis* и избегали газона с оксидом графена. В присутствии оксида графена нематоды питались двумя видами бактерий, большее предпочтение отдают к обычной пище *E. coli*. С использованием темнопольной и оптической микроскопии в просвете кишечника нематод визуализировались бактериальные клетки. На гистологических срезах нематод были обнаружены отдельные скопления бактерий *A. borkumensis* в просвете кишечника, в то время как *E. coli* не наблюдались. С использованием липофильного флуоресцентного красителя Нильский Красный проводили оценку проницаемости кишечника *C. elegans*, что привело к увеличению относительной интенсивности флуоресценции на 12 % после долгосрочной экспозиции бактериями-нефтедеконструкторами. Усиление флуоресценции Нильского Красного предполагает возможное проницаемое состояние кишечного барьера у нематод. После обработки оксидом графена вызвал значительное усиление (на 80 %) окрашивания кишечника Нильским Красным. Подсчет количества колониеобразующих единиц (КОЕ) бактерий *E. coli* и *A. borkumensis*, выделенных из кишечника *C. elegans* был проведен для выявления степени кишечной колонизации. Было выявлено небольшое количество популяции *E. coli* ( $14 \pm 0.6$  КОЕ/червь) у нематод, свидетельствующее, что основная часть бактерий была переварена в кишечнике. В организме микрочервей, выращенных с бактериями *A. borkumensis*, накапливается большее количество непереваренных бактерий ( $571 \pm 43$  КОЕ/червь), подтверждающее колонизацию просвета кишечника хозяина. Процесс дефекации был не нарушен у нематод, питающихся *A. borkumensis*. Следовательно, несмотря на небольшую проницаемость кишечного барьера и кишечную колонизацию, нормальное состояние дефекации служит важным индикатором выведения нативных бактерий из организма нематод. Таким образом, бактерии *A. borkumensis* могут быть использованы в качестве единственного источника пищи для нематод, что открывает новые перспективы для разработки способов биodeградации нефти и нефтепродуктов.

*Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров, за счет финансирования в рамках гос. задания 16.2822.2017/4.6., при финансовой поддержке гранта РФФИ 18-34-00778 мол\_а*

#### Библиографический список

1. Das N., Chandran P. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview. *Biotechnology Research International*, 2010, V. 2011, P. 13.
2. Ibrahim M.L., Ijah U.J.J., Manga S.B., Bilbis L.S., Umar S. Production and partial characterization of biosurfactant produced by crude oil degrading bacteria. *International Biodeterioration & Biodegradation*, V. 81, 2013, P. 28-34.

# КИНЕТИКА РОСТА *M. SMEGMATIS* MC2 155 И ЕГО МУТАНТОВ ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

Полушкина Н.В.<sup>1</sup>, Ерошенко Д.Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный аграрно-технологический университет им.ак. Д.Н.Прянишникова», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н. Полюдова Т.В.**

В работе изучены параметры роста бактерий *Mycobacterium smegmatis* штамма mc<sup>2</sup> 155 (wild type - wt) и его мутантов с делецией локуса гена *varBC*, гена *mazEF* и с делецией обоих указанных локусов (*varBC*×*mazEF*) при периодическом культивировании. Указанные гены кодируют двухкомпонентную систему токсин-антитоксин (ТА), роль которой заключается в том, что кодируемый ею белок токсин нарушает важнейшие клеточные функции, например, трансляцию, репликацию, синтез компонентов клеточной стенки, а антитоксин инактивирует токсин, непосредственно связываясь с ним. В геноме *M. smegmatis* известны три классических локуса ТА систем: *VarBC*, *MazEF* и *Phd/Doc*. Показано, что эти ТА системы отвечают за адаптацию бактерий к стрессовым факторам [1].

Бактерии выращивали на жидкой среде Middlebrook 7H9 с 0,05% твином 80 в колбах на ротационном шейкере (160 об/мин, 37°C). В качестве инокулята использовали колонии с плотной питательной среды возрастом 3 мес. Динамику развития культур оценивали по изменению их оптической плотности при 600 нм (ОП600) (PD-303, “ApeI”, Япония), количества колониеобразующих единиц в мл (КОЕ/мл), а также метаболической активности клеток с помощью соли тетразолия (МТТ, “Sigma”, США), которая способна восстанавливаться под действием ферментов дыхательной цепи бактериальной клетки с образованием окрашенного продукта – формазана. В связи с этим, соли тетразолия часто используются как индикаторы дыхательной активности [2]. Экстракцию формазана проводили 20% твином 80 на 50% этаноле с определением ОП экстрактов при 570 нм.

Динамика роста бактерий *M. smegmatis* mc<sup>2</sup> 155 представлена на рис. 1. Согласно изменению оптической плотности (Рис. 1а), развитие бактериальных культур практически не отличалось. Можно отметить более выраженную фазу скрытого роста у бактерий wt и  $\Delta varBC$ , и, в то же время, в этих культурах выявлена более слабая дыхательная активность, чем у  $\Delta mazEF$  и  $\Delta varBC \times \Delta mazEF$  в течение первых двух суток периодического культивирования (Рис. 1 б).

Изменение количества КОЕ при развитии бактериальных популяций *M. smegmatis* практически не отличалась. Однако, учитывая различную степень коагрегации клеток микобактерий разных штаммов, даже в присутствии детергента (твин 80), обнаруживаемую при микроскопировании (данные не показаны), результаты изменения ОП600 и количества КОЕ/мл, могут не отражать реальной картины роста микробной популяции. Данные по восстановлению солей тетразолия, свидетельствующие о количестве активно дышащих клеток, позволяют оценить степень их метаболической активности и, следовательно, скорость роста популяции. Расчет ростовых параметров по динамике восстановления тетразолия показал, что удельные скорости роста ( $\mu$ ) культур  $\Delta mazEF$  и  $\Delta varBC \times \Delta mazEF$  были практически одинаковыми и в два раза превосходили данный показатель для бактерий wt и  $\Delta varBC$  (Таблица).

Для *M. smegmatis* известна особая фаза жизненного цикла – покоящееся состояние. Клетки, пребывающие в стадии покоя, характеризуются снижением метаболической

активности, в том числе подавлением работы дыхательной цепи и, как следствие, снижением способности к восстановлению тетразолия и образованию формазана [3].

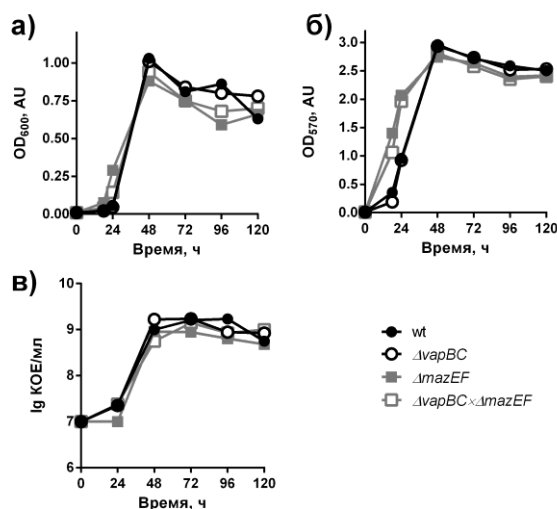


Рис. 1. Динамика развития культур *M. smegmatis* mc<sup>2</sup> 155 и мутантных штаммов: а) оптическая плотность при 600 нм; б) динамика восстановления соли тетразолия, в) количество КОЕ/мл.

Таблица  
 Параметры роста родительского и мутантных штаммов бактерий *M. smegmatis* mc<sup>2</sup> 155

Штамм	wt	$\Delta vapBC$	$\Delta mazEF$	$\Delta vapBC \times \Delta mazEF$
$\mu$ , ч <sup>-1</sup>	0,108	0,111	0,269	0,270
$t_{1/2}$ , ч	6,39	6,23	2,57	2,56

Увеличение лаг-фазы у бактерий дикого типа и с делецией локуса гена *varBC*, их низкая дыхательная активность в этот период, могут свидетельствовать о некоторой доле клеток инокулята, находящихся в дормантном состоянии. Высокая метаболическая активность и более раннее наступление фазы ускорения роста бактерий с делециями генов ТА системы *mazEF* и локусов *varBC*×*mazEF* могут говорить об отсутствии в засевном материале покоящихся форм микобактерий.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№ 18-34-00333 мол\_а)

### Библиографический список

- Demidenok O.I., Kaprelyants A.S., Goncharenko A.V. Toxin-antitoxin *varBC* locus participates in formation of the dormant state in *M. smegmatis*. // FEMS microbiology letters. 2014. V. 352. №1. P. 69–77.
- Калинина А.А., Македошин А.С., Гурский Н.В., Соколова Т.Н., Смирнов В.Ф. Кинетическое исследование восстановления иоднитротетразолия хлорида суспензией в физиологическом растворе грамотрицательных бактерий *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*. // Теоретическая и прикладная экология. 2018. №1. С. 25–32.
- Салина Е.Г., Жогина Ю.А., Шлеева М.О., Сорокоумова Г.М., Селищева А.А., Капрельянц А.С. Биохимические и морфологические изменения в покоящихся («некультивируемых») клетках *Mycobacterium smegmatis*. // Биохимия. 2010. Т. 72, вып. 2. С. 88–98.



## БАКТЕРИИ ГЛУБИННОЙ ПОРОДЫ КАМЕННОЙ СОЛИ (ВЕРХНЕКАМСКОЕ МЕСТОРОЖДЕНИЕ СОЛЕЙ)

Пьянкова А.А.<sup>1</sup>, Кашапова Л.Э.<sup>2</sup>, Плотникова Е.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН,  
г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

Наиболее распространенными породами соляной толщи Верхнекамского месторождения калийно-магниевых и натриевых солей (ВКМКС), крупнейшего из разрабатываемых в мире месторождений солей, являются каменная соль, сильвиниты и карналлитовые породы [1]. При этом основную массу ископаемых соляных пород составляет каменная соль. Цель работы – исследование бактерий образца глубинной породы каменной соли ВКМКС (Пермский край) молекулярно-генетическими и микробиологическими методами.

Для исследования был взят образец породы каменной соли ВКМКС, отобранный с глубины 239,7-239,8 м, который был предоставлен сотрудниками «Горного института УрО РАН» (филиал ПФИЦ УрО РАН). Из образца соли была выделена тотальная ДНК с использованием набора реактивов Fast DNA spin kit for soil («MP Biomedicals», Франция), которую далее использовали в качестве матрицы для ПЦР. С помощью набора реактивов Quant-iT™ dsDNA BR Assay Kit и прибора Qubit Fluorometer («Invitrogen», США) была измерена концентрация выделенной ДНК, которая составила 7,12 мкг/мл. Амплификацию генов 16S рРНК проводили с использованием универсальных бактериальных праймеров 27F и 1492R. Полученные ПЦР-фрагменты генов 16S рРНК клонировали в клетках *E. coli* JM109 при использовании набора реактивов Thermo Scientific InsTAclone PCR Cloning Kit («Thermo Scientific», Литва).

В результате клонирования была создана библиотека, состоящая из 102 рекомбинантных клонов, с ДНК-матрицы которых с использованием праймеров M13 F/R («Евроген», Россия) осуществляли амплификацию вставки (генов 16S рРНК). Полученные последовательности генов 16S рРНК изучали путем анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ-анализ) при использовании эндонуклеазы рестрикции *Hha*I.

В результате проведенных исследований среди 102 рекомбинантных клонов было выявлено 15 геномогрупп клонированных генов 16S рРНК (15 отдельных таксономических единиц, ОТЕ) (Рис. 1). В двух рестрикционных группах было обнаружено наибольшее количество клонов (32,35 и 31,37 % от общего числа), также выявлено 9 групп, представленных 1 клоном (0,98 %), в остальных группах количество клонов составляло от 1,96 до 10,78%. В дальнейшем планируется определение нуклеотидных последовательностей исследуемых фрагментов гена 16S рРНК представителей каждой геномогруппы.

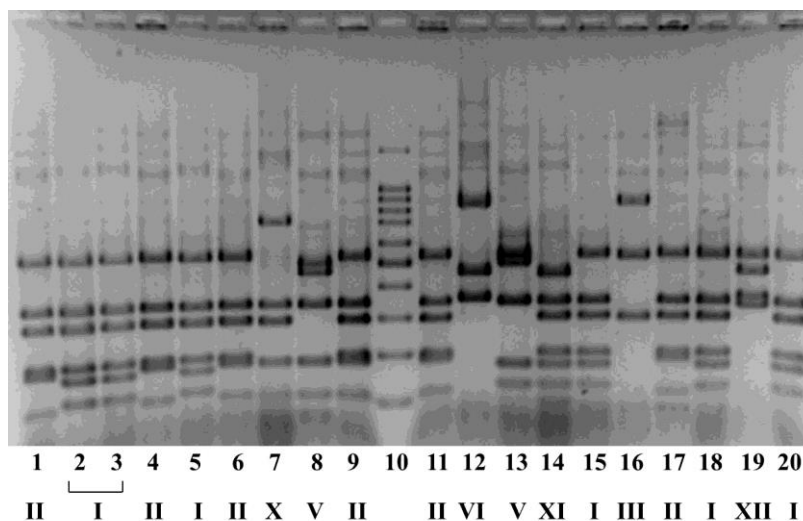


Рис. 1. Электрофореграмма рестриционных фрагментов клонированных генов 16S рПНК после обработки эндонуклеазой *HhaI*: 10 – маркер длин ДНК 100+ bp DNA Ladder («Евроген», Россия); 1-9 и 11-20 – рекомбинантные клоны. На рисунке представлено 19 произвольно выбранных клонов. Римскими цифрами обозначены номера геномогрупп.

Выделение чистых культур микроорганизмов из образца каменной соли осуществляли методом накопительного культивирования. В 50 мл богатой среды Раймонда (БСР, 50 г/л NaCl) [2] помещали 0,5 г каменной соли (отобранной из глубинной части образца в стерильных условиях) и инкубировали 1 месяц при температуре 28 °С. Из полученной накопительной культуры путем высева на агаризованную БСР с содержанием 50 г/л NaCl были выделены два штамма бактерий, обозначенных как 38-1 и 38-5.

На агаризованной БСР (30 г/л NaCl) штамм 38-1 образовывал колонии светло-жёлтого цвета, округлой формы с ровным краем, гладкой блестящей поверхностью, однородной структурой. Колонии штамма 38-5 были белого цвета, мучнистые, округлой формы с неровным краем, шероховатой поверхностью, неоднородной структурой. Штамм 38-1 способен к росту на БСР, содержащей до 100 г/л NaCl, оптимальный рост штамма 38-1 - при 0-50 г/л NaCl. Рост штамма 38-5 наблюдался на БСР без добавления NaCl и в присутствии до 50 г/л NaCl. Фрагменты генов 16S рПНК выделенных штаммов были секвенированы на автоматическом секвенаторе Genetic Analyser 3500XL («Applied Biosystems», США) в лаборатории «Молекулярной биологии и генетики» ЕНИ ПГНИУ. Поиск гомологов генов 16S рПНК проводили в международной базе данных EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net>). Филогенетический анализ изолятов показал, что штаммы 38-1 и 38-5 имели наибольшее сходство с типовыми штаммами *Micrococcus aloeverae* АЕ-6<sup>T</sup> (99,93%) и *Streptomyces coelicoflavus* NBRC 15399<sup>T</sup> (100%), соответственно.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что в глубинной породе каменной соли Верхнекамского месторождения присутствуют бактерии различных таксонов, так, молекулярными методами было выявлено 15 ОТЕ. Культивируемые бактерии в исследуемом образце каменной соли представлены родами *Streptomyces* и *Micrococcus* (класс *Actinobacteria*).

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: 01201353247.

#### Библиографический список

1. Физико-механические свойства соляных пород Верхнекамского калийного месторождения: учеб. пособие / А.А. Барях, В.А. Асанов, И.Л. Паньков. Пермь: Изд-во Перм. гос. техн. ун-та, 2008. 199 с.
2. Микробное разнообразие в глинисто-солевых шламах калийного предприятия (г. Березники, Пермский край) / Е.С. Корсакова [и др.] // Вестник Пермского Университета. Серия: Биология. 2017. Вып. 1. С. 70-79.

# ВЛИЯНИЕ СОСТАВА СРЕДЫ НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ КИШЕЧНЫХ БАКТЕРИЙ В ПРИСУТСТВИИ ПОЛИФЕНОЛОВ

Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.

«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН,  
г. Пермь, Россия

Полифенолы катехин, танниновая и галловые кислоты наиболее часто употребляются человеком в пищу в составе продуктов питания растительного происхождения и активно воздействуют на представителей нормальной микрофлоры. Возникающие модулирующие эффекты могут варьировать от пребиотических до антибактериальных, которые часто ассоциируют с про- и антиоксидантными свойствами [1]. Мало изученными остаются факторы, влияющие на направление модуляции жизнедеятельности кишечных бактерий в присутствии полифенолов. Наиболее значимый эффект могут оказывать как действующая доза вещества, так и состав питательной среды.

Целью данной работы явилось изучение влияния широкого диапазона концентраций катехина, танниновой и галловой кислоты на биопленкообразование бактерий *Escherichia coli* BW25113 при культивировании на бедной и богатой питательной среде.

В ходе работы измеряли фармакодинамические параметры – минимальные ингибирующую (МИС) и бактерицидную концентрации (МВС), минимальную концентрацию, предотвращающую образование биопленок (МВРС) [2, 3]. Также используя планшетный спектрофотометр xMark™ (Bio-Rad, USA), измеряли рост по показателю оптической плотности при длине волны 600 нм ( $OD_{600}$ ), валовое и удельное биопленкообразование через 22 ч инкубации на 96-луночных полистироловых планшетах в присутствии 0.4-4.0 мг/мл полифенолов на бедной (М9 с добавлением 4 г/л глюкозы) или богатой питательной (2.5% бульон LB) средах [4].

Реактивы катехин, танниновая и галловые кислоты, бульон LB получили от Sigma-Aldrich Chemical Co (St Louis, MO, USA), прочие реагенты были получены от «Реахим» и имели маркировку «ч.д.а».

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6 (ver. 6, 2001; StatSoft Inc.). Каждый результат представлен как среднее значение не менее пяти независимых экспериментов  $\pm$  SEM. Для оценки статистически достоверной значимости пользовались тестом Стьюдента ( $P = 0.05$ ).

В наших условиях, инкубация в присутствии 4 мг/мл катехина и галловой кислоты приводила к подавлению биопленкообразования (БПО) на среде LB. Это соответствовало выявленным значениям МВРС для галловой кислоты. При этом, на среде М9 с добавлением глюкозы танниновая кислота оказывала стимулирующее влияние на БПО, и МВРС не обнаруживалась на обеих средах.

Величина МИС на обеих средах для галловой и танниновой кислоты составила 1 и 4 мг/мл, соответственно.

Значение МВС удалось установить только для галловой кислоты (4 мг/мл) на среде LB. Наши данные согласуются с ранее опубликованными сведениями о сильных антибактериальных эффектах галловой кислоты по отношению к *E. coli* на богатых питательных средах [5]. Примечательно, что обнаруженный нами на среде LB бактерицидный эффект галловой кислоты исчезал при инкубации на среде М9 с добавлением глюкозы. Это могло быть связано со способностью богатой питательной среды поддерживать активный рост бактериальной культуры, что, в свою очередь, могло привести к повышению чувствительности к антимикробному действию галловой кислоты.

Измерение валового БПО показало ингибирующие эффекты 4 мг/мл полифенолов на среде LB. В то же время, на среде М9 с добавлением глюкозы ингибирующее влияние

обнаруживалось только у 4 мг/мл галловой кислоты, а танниновая кислота оказывала мощное стимулирующее действие.

При измерении  $OD_{600}$  обнаруженное подавление роста в присутствии 4 мг/мл полифенолов было сильнее выражено на среде LB. Расчеты удельного биопленкообразования свидетельствовали об отсутствии ингибирующих эффектов 4 мг/мл галловой кислоты, а танниновая кислота по-прежнему сохраняла стимулирующее влияние.

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы. Во-первых, видимое подавление валового БПО в присутствии галловой кислоты объясняется снижением числа жизнеспособных клеток, образующих биопленки. Мнимый ингибирующий эффект исчезает при учете общего числа клеток. При этом, наличие у танниновой кислоты только бактериостатического действия приводит к достоверному стимулированию БПО как ответной реакции у бактериальных культур на стресс в присутствии этого полифенола. Во-вторых, обнаруженная модуляция БПО на разных средах может быть связана с влиянием на скорость роста бактериальных культур.

В совокупности, наши данные подчеркивают сложную природу модуляции БПО в присутствии полифенолов и указывают на необходимость разработки тест-систем, позволяющих изучить весь спектр модулирующих эффектов.

*Исследование выполнено в рамках государственного задания № госрегистрации темы 01201353246, а также при поддержке грантами Президента МК-3376.2018.4 и Программы УрО РАН АААА-А18-118041890005-1.*

#### **Библиографический список**

1. Dueñas M., Muñoz-González I., Cueva C, Jiménez-Girón A., Sánchez-Patán F. et al. A survey of modulation of gut microbiota by dietary polyphenols // Biomed Res Int. 2015. P. 850902.
2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2000. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, 5<sup>th</sup> edn. Approved standard M7-A5.
3. Macia M.D., Rojo-Molinero E., Oliver A. Antimicrobial susceptibility testing in biofilm-growing bacteria. Clin Microbiol Inf. 2014. Vol.20 (10). P. 981-990.
4. Samoliova Z, Smirnova G, Oktyabrsky O. Synergistic and antagonistic of plant extracts and antibiotics on mature *Escherichia coli* biofilms. PCBMB. 2019. Vol.20. P. 81-94.
5. Borges A., Simões L.C., Saavedra M.J., Simões M. The action of selected isothiocyanates on bacterial biofilm prevention and control. Int Biodeterior and Biodegradation. 2014. Vol.86 (PtA). P. 25-33.

## **РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ БИОСИНТЕЗА ПАЛЬМИТОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДРОЖЖЕВЫХ ОРГАНИЗМОВ**

Степанова Н.Н.

*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина ФИЦ ПНЦБИ РАН*  
**Научный руководитель: д.б.н. Моргунов И.Г.**

Пальмитолеиновая кислота (ПОК) относится к омега-7 группе мононенасыщенных жирных кислот. Она характеризуется уникальными биологическими свойствами и находит широкое применение в различных областях. ПОК применяется при лечении и профилактике заболеваний, таких как диабет, заболевания сердечно-сосудистой системы, онкогенез, смягчает течение воспалительных процессов, улучшает состояние кожи, волос и ногтей. Эта кислота является мощным природным антиоксидантом, обладает выраженным антимикробным действием в отношении целого ряда патогенных микроорганизмов и может

стать достойной альтернативой существующим антибиотикам. Растительные масла, богатые этой кислотой, служат прекрасным сырьём для производства ряда химических соединений и биодизельного топлива [1, 2].

Традиционно ПОК получают из норкового жира и жира морских животных. Также для получения пальмитолеиновой кислоты используется облепиховое масло и масло ореха макадамии.

В последние пять лет отмечается интерес к микробиологическому синтезу ПОК. В США, Китае, Чехии, Финляндии начаты исследования по биосинтезу ПОК с использованием бактерий и дрожжей. Однако экономически значимого микробиологического процесса получения пальмитолеиновой кислоты до настоящего времени не разработано [3].

В связи с вышеизложенным целью работы является изучение закономерностей синтеза липидов с повышенным содержанием ПОК дрожжевыми организмами и разработка способа получения и выделения этого продукта.

В ходе выполнения работы изучена способность дрожжей различного таксономического положения синтезировать липиды с повышенным содержанием ПОК; селекционирован штамм *Torulaspora globosa* ВКПМ Y-953 (или *Debaryomyces globosus* ВКПМ Y-953) – продуцент липидов с высоким содержанием ПОК на средах с этанолом и глюкозой; исследована динамика роста, синтеза липидов и ПОК у отобранного продуцента. Определены условия культивирования, оптимальные для получения липидов с высоким содержанием ПОК: температура 28°C; рН=5.5; аэрация 60% от насыщения.

Установлено, что природа лимитирующего рост компонента (соотношение С/Н) оказывает существенное влияние на синтез липидов у *T. globosa*. Как видно из таблицы 1, в среде с этанолом в условиях лимитирования *T. globosa* азотом отмечено более высокое накопление липидов (43.8% от биомассы) по сравнению с дефицитом энергетического субстрата (27.8% от биомассы). При недостатке этанола биомасса характеризовалась более высоким содержанием белка (23.4% от биомассы) и выходом биомассы от потребленного субстрата ( $Y_{X/S}$ ) (54.4%), чем при недостатке азота (16.7% от биомассы и 31.1%, соответственно); в этих условиях выход липидов был выше на 27%, чем при недостатке азота. Известно, что липиды, синтезированные микроорганизмами в условиях дефицита углеродного субстрата, выполняют преимущественно функциональную роль в метаболизме (участвуют в транспортных процессах, регулируют активность ферментных систем и др.).

Изучено влияние различных концентрации ионов цинка на показатели роста *T. globosa* и синтез липидов в среде с этанолом. Обнаружена корреляция между содержанием белка, липидов и содержанием макроэлементов в биомассе *T. globosa*. При повышении концентрации цинка с 0.001 до 2.8 мг/л происходило увеличение доли липидов на 67%, которое коррелировало с увеличением доли углерода на 16.7% и водорода на 13.4%. В то же время при повышении цинка с 0.001 до 2.8 мг/л происходило снижение содержания белка на 65%, которое коррелировало со снижением доли азота на 68.1%.

Таблица 1.

Влияние природы лимитирующего рост компонента на рост и липидогенез у *T. globosa*.

Параметры	Азот	Этанол
Липиды (% от биомассы)	43.8	27.8
Белок (% от биомассы)	16.7	23.4
Выход биомассы ( $Y_{X/S}$ ) (%)	31.1	54.4
Выход липидов ( $Y_{L/S}$ ) (%)	13.6	17.3

При всех исследованных режимах культивирования основными жирными кислотами среди насыщенных являлась пальмитиновая кислота (C<sub>16:0</sub>), среди ненасыщенных – ПОК (C<sub>16:1</sub>) и олеиновая (C<sub>18:1</sub>). Понижение концентрации цинка в среде с 2.8 до 0.1 мг/л в условиях лимитирования роста клеток этанолом приводило к снижению доли C<sub>16:0</sub> с 24.6 до

16.5% и повышению доли ПОК с 37.5 до 41.7%. Дальнейшее понижение концентрации цинка до 0.001 мг/л приводило к снижению ПОК до 29.2% и увеличению олеиновой кислоты (C<sub>18:1</sub>) до 42.2 %. В условиях лимитирования роста клеток *T. globosa* цинком появляется незаменимая линолевая кислота (C<sub>18:2</sub>) (7.3% от липидов). Расчётный показатель содержания ПОК в биомассе *T. globosa* был достаточно высоким и достигал 10.4-10.7% (от биомассы.) при концентрации цинка в среде 0.28 – 2.8 мг/л, что позволяет рекомендовать данный штамм для получения липидов с высоким содержанием ПОК.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-38-00794 мол\_а.*

#### **Библиографический список**

1. Kolouchová I. et al. New yeast-based approaches in production of palmitoleic acid // *Bioresour. Technol.* – 2015. – V. 192. – P. 726-734.

2. Степанова Н.Н., Моргунов И.Г. Липиды дрожжей как новый источник пальмитолеиновой кислоты // *Актуальные вопросы нутрициологии, биотехнологии и безопасности пищи. Материалы Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием.* - 2017. - С. 233-236.

3. Степанова Н.Н., Моргунов И.Г. Биосинтез пальмитолеиновой кислоты дрожжами // *Актуальная биотехнология.* - 2018. - № 3 (26). - С. 546.

### **ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЛУТАТИОНА ПРИ ДЕЙСТВИИ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА И ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА НА РАСТУЩИЕ БАКТЕРИИ *ESCHERICHIA COLI***

Кузнецов К.В.<sup>2</sup>, Сутормина Л.В.<sup>2</sup>, Смирнова Г.В.<sup>1</sup>, Октябрьский О.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия*

<sup>2</sup>*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*

Для оптимизации биотехнологических процессов и совершенствования приемов борьбы с бактериальными инфекциями необходимо глубокое изучение физиологического ответа бактерий на стрессы, индуцированные различными факторами, в том числе действием антибиотиков. Фторхинолон ципрофлоксацин широко используется для лечения инфекций, поражающих дыхательные пути, кишечник и мочеполовую систему. У бактерий *Escherichia coli* мишенью этого антибиотика является фермент ДНК-гираза. Связываясь с комплексом ДНК-фермент, хинолон препятствует восстановлению разрывов в молекуле ДНК, что приводит к фрагментации хромосом и гибели клеток [1]. Предполагается, что в аэробных условиях в механизме бактерицидного действия ципрофлоксацина могут участвовать активные формы кислорода (АФК), прежде всего, гидроксильный радикал. Известно, что перекись водорода также вызывает гибель бактерий путем повреждения ДНК вследствие образования гидроксильных радикалов в ходе реакции Фентона [2]. В результате повреждения ДНК при экспозиции бактерий к ципрофлоксацину и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> активируется SOS-система, функцией которой является репарация этих повреждений. Трипептид глутатион (GSH) является важнейшим внутриклеточным антиоксидантом, который способен прямо взаимодействовать с АФК и участвует в контроле регулонов, отвечающих на окислительный стресс. Целью данной работы было изучить влияние GSH на индукцию SOS-регулона и устойчивость *E. coli* к действию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и ципрофлоксацина.

Объектом исследований служили бактерии *E. coli* BW25113 (родитель) и JW2663 ( $\Delta gshA$ ), мутант, лишенный глутатиона. Путем трансдукции с фагом P1 в хромосомную ДНК обоих штаммов было вставлено слияние промотора гена *sulA* со структурным геном  $\beta$ -галактозидазы *sulA(sfiA)::lacZ*. Ген *sulA* является частью SOS-регулона. Показателем степени экспрессии гена *sulA* служила активность фермента  $\beta$ -галактозидазы, которую определяли спектрофотометрически по измерению поглощения о-нитро-фенилгидразина (ОНФГ) при 420 нм [3]. Бактерии выращивали в колбах на качалках (150 об/мин, температура 37°C) на минимальной среде M9 с добавлением глюкозы (0.15%). Ципрофлоксацин (3 мкг/мл) или H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 мМ) добавляли в экспоненциально растущую культуру при оптической плотности OD<sub>600</sub> = 0.2. Влияние ципрофлоксацина на рост и выживаемость бактерий оценивали путем измерения удельной скорости роста и колониобразующей способности с использованием стандартной процедуры посева разведений культуры на чашки с LB агаром. Удельную скорость роста рассчитывали по уравнению  $\mu = \Delta \ln OD_{600} / \Delta t$ , где  $\Delta \ln$  – разница между логарифмами значений OD<sub>600</sub> во время t<sub>1</sub> и t<sub>2</sub>, выраженное в часах.

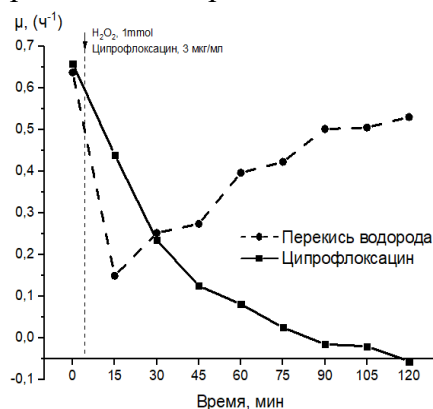


Рис. 1. Зависимость удельной скорости роста ( $\mu$ ) клеток *E. coli* при действии перекиси водорода и ципрофлоксацина

В обоих штаммах добавление H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> приводило к быстрому снижению удельной скорости роста практически до нуля с последующим постепенным возвращением  $\mu$  к исходному уровню по мере деградации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в среде с участием внутриклеточных каталаз (рис. 1). При этом в течение 1 часа наблюдалось замедление прироста колониобразующих единиц (КОЕ) по сравнению с контролем. Существенная разница между двумя исследуемыми штаммами при ответе на действие 1 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> отсутствовала. Экспозиция бактерий к ципрофлоксацину сопровождалась более медленным и необратимым падением удельной скорости роста, которая достигала отрицательных значений, свидетельствуя о гибели клеток. В течение двух часов после добавления антибиотика logКОЕ/мл снижался почти на 3 порядка. Отсутствие GSH у мутанта не влияло на изменение скорости роста и числа КОЕ при действии ципрофлоксацина.

Исследуемые штаммы имели близкие уровни активности  $\beta$ -галактозидазы, которые поддерживались на постоянном уровне в течение двух часов наблюдения в контрольных условиях. Добавление H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и ципрофлоксацина приводило к индукции SOS-ответа, что фиксировалось в наших экспериментах как повышение активности  $\beta$ -галактозидазы (табл. 1). Максимум активности достигался в течение 60 мин, а затем поддерживался на постоянном уровне. При этом обработка перекисью водорода стимулировала экспрессию гена *sulA* в 2.6 раза и у родителя и у *gshA* мутанта. Ципрофлоксацин вызывал повышение активности  $\beta$ -галактозидазы в 3.8 и 4.2 раза соответственно.

Таблица 1.

Экспрессия гена *sulA* в растущих клетках *E. coli*

Активность $\beta$ – галактозидазы	wt	<i>gshA</i>	wt	<i>gshA</i>
	Перекись водорода		Ципрофлоксацин	
Начальная	280	220	228	225
Максимальная	733	569	870	943

Таким образом, наши эксперименты показали, что отсутствие GSH не играет существенной роли в устойчивости *E. coli* к низкой концентрации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и к действию антибиотика ципрофлоксацина и слабо влияет на индукцию SOS-системы. Эти данные хорошо согласуются с тем, что добавление экзогенного глутатиона к клеткам *E. coli* не защищает их от бактерицидного действия ципрофлоксацина при росте на минимальной среде [4].

Работа выполнена в рамках государственного задания 01201353249 и поддержана грантом РФФИ № 19-04-00888.

**Библиографический список**

1. Drlica K., Malik M., Kerns R.J., Zhao X. Quinolone-mediated bacterial death // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2008. Vol. 52. P. 385–392.
2. Imlay J.A. Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide // *Annu. Rev. Biochem.* 2008. Vol. 77. P. 755–776.
3. Miller J.H. *Experiments in molecular genetics.* Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1972.
4. Smirnova G., Muzyka N., Lepekhina E., Oktyabrsky O. Roles of the glutathione- and thioredoxin-dependent systems in the *Escherichia coli* responses to ciprofloxacin and ampicillin // *Arch. Microbiol.* 2016. Vol. 198. P. 913–921.

## ПОВЫШЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI* К ПОЛИМИКСИНАМ

Тарасова И.А.

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный аграрно-технологический университет им. ак. Д.Н.Прянишникова», г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: к.б.н. Полюдова Т.В.**

Стремительное появление резистентности к антибиотикам у возбудителей инфекционных заболеваний заставляет пересматривать отношение к ряду известных и давно используемых антибактериальных соединений, в том числе к полимиксидам – полипептидным антибиотикам, продуцируемым *Bacillus polymyxa*. Полимиксины обладают высокой антибактериальной активностью в отношении грамотрицательной микрофлоры. Однако в настоящее время они применяются лишь как препараты глубокого резерва, поскольку данные соединения обладают побочными токсическими эффектами [1]. Одним из возможных решений проблемы антибиотикорезистентности является сочетанное применение различных антибиотических соединений [2]. Вместе с тем при синергидном действии разных веществ, как правило, возможно существенное снижение действующих концентраций, что, в свою очередь, снижает риск токсического воздействия на макроорганизм.

В настоящей работе исследована возможность совместного применения полимиксинов (Б и М) с низкомолекулярным катионным пептидом низином, являющимся основным



действующим веществом пищевой добавки E234 «Низаплин», в отношении бактерий *Escherichia coli* ATCC 25992 и клинического изолята *E.coli* №6.

Оценку резистентности бактерий к антибиотикам определяли дискодиффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтона с использованием дисков с антибиотиками канамицин, меропенем, тетрациклин, цефазолин, цефалотин, цефаклор, цефуроксим, ципрофлоксацин (НИЦФ, Россия) в соответствии с методическими указаниями МУК 4.21890-04 [3]. Установлено, что бактерии *E. coli* ATCC 25922 были чувствительны ко всем исследованным антибиотикам, кроме тетрациклина, к которому был выявлен промежуточный уровень устойчивости [3]. Бактерии клинического изолята *E.coli* №6 проявляли устойчивость к 6 из 8 клинически значимых антибиотиков. Чувствительность этих бактерий была выявлена лишь к меропенему и к одному из цефалоспоринов I поколения – цефазолину. Чувствительность бактерий к полимиксину Б-сульфату (ПмБ) (USD, Дания), полимиксину М-сульфату (ПмМ) (Агрофарм, Россия) и низаплину, содержащему 2,5% низина (Sigma-Aldrich, США) определяли методом последовательных двукратных разведений. Установлены минимальные подавляющие концентрации (МПК) этих препаратов для бактерий *E.coli*, значения которых представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Минимальные подавляющие концентрации полимиксинов и низаплина, мкг/мл

Штамм	ПмБ	ПмМ	Низин
<i>E.coli</i> ATCC 25992	0,6	1,2	500
<i>E.coli</i> №6	0,2	6,25	250

Выявлена высокая чувствительность бактерий обоих штаммов к полимиксиновым антибиотикам. Важно отметить, что и низин в составе низаплина оказывал выраженное антибактериальное действие на *E.coli*, несмотря на то, что основными мишенями его действия являются вегетативные клетки и споры грамположительных бактерий [4]. Совместное действие антибактериальных соединений на бактерии кишечной палочки определяли в полистироловых планшетах (Медполимер, Россия) методом «шахматной доски» [5]. Результаты исследований показали, что антибактериальные соединения обладают выраженным синергидным эффектом при их одновременном воздействии на бактерии *E.coli* (Таблица 2).

Таблица 2.

Минимальные подавляющие концентрации полимиксинов и низина при их совместном действии на *E.coli*, мкг/мл

Штамм	ПмБ /низин	ПмМ/низин
<i>E.coli</i> ATCC 25992	0,6/250,0	0,3/125,0
<i>E.coli</i> №6	0,05/7,8	0,4/15,6

Для оценки степени синергидного действия антибактериальных соединений определяли индекс фракционной ингибирующей концентрации (ФИК). Эффект комбинации считается синергидным при индексе ФИК  $\leq 0,5$  и антагонистическим при индексе ФИК  $>1$  [2]. Расчеты показали, что индексы ФИК были не одинаковы для комбинаций исследованных соединений в отношении разных штаммов *E.coli* (Таблица 3). Из таблицы видно, что выраженный синергидный эффект в отношении бактерий обоих штаммов проявляется при сочетанном применении полимиксина М с низином. В то время, как комбинация полимиксина Б с низином была эффективна лишь в отношении бактерий *E.coli* №6. При действии на бактерии *E.coli* ATCC 25992 был выявлен антагонистический эффект.

Таким образом, настоящим исследованием показано, что путем совместного действия различных антимикробных соединений на бактерии *E.coli* возможно существенное снижение их эффективных концентраций. Это особенно важно при использовании полимиксинов, которые в высоких концентрациях обладают токсичным действием на человека и животных [1].

Индексы фракционной ингибирующей концентрации

Штамм	индекс ФИК ПмБ /низин	индекс ФИК ПмМ/низин
<i>E.coli</i> ATCC 25992	1,5	0,5
<i>E.coli</i> №6	0,28	0,126

### Библиографический список

1. Kelesidis T., Falagas M.E. The safety of polymyxin antibiotics.// J. Expert Opinion on Drug Safet. 2015. V.14. P. 1687-1701.
2. Williamson E.M. Synergy and other interactions in phytomedicines // Phytomedicine. – 2001. – Vol. 8, № 5. – P. 401–409.
3. Методические указания МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. М: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. С.91
4. Shin J.M., Gwak J.W., Kamarajan P., Fenno J.C., Rickard A.H., Kapila Y.L. Biomedical Applications of Nisin // J Appl Microbiol. 2016. V. 120(6). P. 1449–1465.
5. Berkhout J., Melchers M.J., van Mil A.C., Nichols W.W., Mouton J.W. In Vitro Activity of Ceftazidime-Avibactam Combination in In Vitro Checkerboard Assays.// Antimicrob Agents Chemother. 2015. V. 59(2). P. 1138-1144.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ ПРОДУЦЕНТОВ-МИКРОМИЦЕТОВ, ГИДРОЛИЗИРУЮЩИЕ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНЫЙ КОМПЛЕКС ПОВЕРХНОСТНЫМ КУЛЬТИВИРОВАНИЕМ

Томилова Н.С.<sup>1</sup>, Баландина С.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>НИЛ "Бактерицид", ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Гидролазы - это ферменты, катализирующие распад сложных веществ на более простые с участием воды. Наиболее важными подклассами гидролаз являются ферменты, расщепляющие основные классы соединений: углеводы, белки, липиды. Известно, что способ питания грибов – всасывание питательных веществ из субстрата (осмотрофный). Поскольку органические вещества в субстрате находятся в форме полимеров, грибы выделяют внеклеточные ферменты - деполимеразы, расщепляющие полимеры до олиго- и мономеров. (<http://diss.seluk.ru/pr-biologiya/718445-4-rannyaya-kolonizaciya-sushi-moskva-pin-ran-2012-isbn-978-5-903825-21-9-rannyaya-kolonizaciya-sushi-otv-red-rozhnov.php>). Исследование направлено на поиск новых микромицетов, обладающих гидролитическими свойствами для разрушения кородревесных отходов (КДО), содержащих лигноцеллюлозный биокомплекс.

### Объекты и методы

Для изучения ферментативной активности были выбраны следующие изоляты микромицетов: *Aspergillus fumigatus*, *Paecilomyces variotii*, *Fusarium spp.* *Penicillium purpurogenum*, *Trichoderma*, *Exophiala jeanselmei*, *Acremonium strictum*[1,2], выделенные из короотвала. Культивирование плесневых грибов проводили поверхностным методом на твердых питательных средах Чапека-Докса в течение 7 суток при температуре 25±1°C.

Микромицеты были исследованы на амилаолитические, целлюлолитические, лигнолитические, пектолитические ферменты и редуктазную активность, участвующую в окислительно-восстановительных процессах.

Амилазная активность определялась по способности культуры, обесцвечивать крахмально-йодный комплекс.

Метод определения целлюлазной активности основан на взаимодействии конго красного с полисахаридом – карбоксиметилцеллюлозой (КМЦ), образуя комплекс ярко-красного цвета. Низкомолекулярные продукты гидролиза КМЦ образуют неокрашенный комплекс с красителем из-за чего в месте локализации фермента образуется зона просветления [3].

Наличие лигнолитической ферментативной активности микромицетов оценивалась по величине зоны изменения окраски среды вокруг растущего края колонии. Цветной реакцией Бавендамма обнаруживают не менее трех ферментов: лакказы, пероксидазу и дифенолоксидазу (тирозиназу). В качестве субстрата был использован танин [4].

Пектиназная активность определялась по наличию зон просветления вокруг колонии после окрашивания азур-эозином по Романовскому с добавлением в качестве субстрата свежесжатый яблочный сок.

Наличие редуктазы устанавливали методом, основанном на свойстве фермента, выделяемого микромицетами, восстанавливать резазурин, в результате чего синий краситель превращается в розовый флуоресцирующий резорурфин.

Результаты и обсуждения

Таблица 1

Экспресс-скрининг продуцентов-микромицетов

Наименование микромицета	Ферментативная активность				
	Амилазная	Целлюлазная	Лигнолитическая	Пектиназная	Редуктазная
<i>Aspergillus fumigatus</i>	+++	++	++	++	++
<i>Paecilomyces variotii</i>	-	+	++	+	+
<i>Fusarium spp</i>	+	+	-	+	+
<i>Penicillium purpurogenum</i>	+	+	-	-	+
<i>Trichoderma spp.</i>	-	+	+	+	-
<i>Exophiala jeanselmei</i>	+	++	+++	+	+
<i>Acremonium strictum</i>	+	++	+	+	+

Примечание: целлюлазная, лигнолитическая, пектиназная и редуктазная активности: размер зоны изменения окраски до «+» - 10мм, «++» - 20мм, «+++» - 30мм; амилаолитическая способность: «+» - слабое обесцвечивание, «++» - умеренное, «+++» - сильное; «-» - отсутствие активности.

После анализа результатов, представленных в таблице, можно сделать следующие выводы:

1. Изученные микромицеты родов *Fusarium*, *Penicillium* и *Trichoderma* обладают слабыми ферментативными активностями, что делает их неэффективными деструкторами целлюлозы и лигнина.

2. Культуры *Aspergillus fumigatus* и *Paecilomyces variotii*, выделенные из верхних слоев короотвала, способны к экспрессии высокоактивных ферментных комплексов. Данное свойство позволяет использовать микромицеты в качестве продуцентов для поверхностной биодеградаци КДО.

3. Выделенные из глубинных слоев короотвала виды *Exophiala jeanselmei* и *Acremonium strictum* обладают амилазной, целлюлазной, лигнолитической, пектиназной и восстанавливающей способностями. Отсюда следует, что микромицеты, с выраженными ферментативными свойствами способны осуществлять биоконверсию КДО в легкоусвояемые вещества.

Таким образом, вышеуказанные микромицеты можно использовать для углубленного изучения процессов биодеструкции.

Работа выполнена в рамках проекта МИГ, финансируемого Министерством образования и науки Пермского края соглашение № С-26/796 от 21.12.2017.

### Библиографический список

1. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. – Наукова думка, 1982. – 550 с.
2. Саттон, Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. – М.:Мир, 2001.470 с.
3. Carder J.H. Detection and quantitation of cellulase by Congo red staining of substrates in a cup-plate diffusion assay // Anal. Biochem. – 1986. – V. 153. – P. 75-79.
4. Федорова Т.В., Шахова Н.В., Кляйн О.И., Глазунова О.А., Малошенок Л.Г., Куликова Н.А., Псурцева Н.В., Королева О.В. - Сравнительный анализ лигнолитического потенциала базидиальных грибов, принадлежащих к различным таксономическим и экологическим группам // Прикл. биохимия и микробиология. – 2013. – Т. 49, № 6. – С. 570–579.

## ЛИГНОЛИТИЧЕСКАЯ СПОСОБНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ ПО ОТНОШЕНИЮ К КОРОДРЕВЕСНЫМ ОТХОДАМ

Томилова Н.С.<sup>1</sup>, Баландина С.Ю.<sup>2</sup>, Максимов А.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>НИЛ "Бактерицид", ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

На сегодняшний день в России широко распространена проблема утилизации отходов целлюлозобумажных, деревообрабатывающих и лесозаготовительных производств, которые представляют собой опил, стружку, кору, и т.д. Одним из решений данной экологической проблемы может послужить переработка кородревесных отходов (КДО) с помощью микроорганизмов, а именно микромицетов, которые в процессе ферментативного гидролиза превращают лигнин и целлюлозу в легкоусвояемые вещества.

Из природного источника (короотвал ЦБК, г. Краснокамск) выделены культуры микромицетов - вероятные биодеструкторы лигнина. Изоляты грибов идентифицированы как *Aspergillus fumigatus*, *Paecilomyces variotii*, *Trichoderma viride*, *Fusarium spp.*, *Exophiala jeanselmei*, *Acremonium strictum* [1,2].

Для оценки способности культур микромицетов к твердофазному росту на опилках, последние предварительно измельчали [3]. Далее навеску 300 мг измельченных опилок помещали в колбы емкостью 100 мл с притертыми пробками для стерилизации. Стерилизация производилась при 100 °С в течение 1 часа. После этого в опилки вносили культуральную жидкость (жидкая среда Чапека-Докса и микромицеты) из расчета 1,5 мл жидкости на 100 мг абсолютно сухих опилок. Для приготовления микробной суспензии использовали 14-суточные культуры микромицетов, которые были стандартизированы по оптическому стандарту мутности Мак-Фарланда №2 с использованием денситометра. После чего колбы помещали в термостат для культивирования при  $t=25\pm 1^\circ\text{C}$ . Колбы периодически

штуттелировали и открывали пробки для доступа кислорода. Оценку убыли лигнина с помощью микромицетов проводили на 7 сутки по модифицированной методике Комарова [4].

Контролем служили опилки, инокулированные стерильной дистиллированной водой и выдержанные в тех же условиях, что и опытные.

Массовая доля лигнина рассчитывается по формуле:

$$L = \frac{m1-m2}{g}, \text{ где}$$

m1 - масса фильтра с лигнином

m2 - масса пустого фильтра

g - масса абсолютно сухой навески древесных опилок

Результаты и выводы

Анализируя вышеполученные данные, можно сделать следующие выводы:

1. Культуры микроорганизмов *Acremonium strictum*, *Fusarium spp.*, не показали положительного результата. Установлено, что они не обладают лигнолитической способностью. В дальнейшем планируется рассмотреть их применение в качестве продуцентов целлюлолитических ферментов.

Таблица 1

Убыль лигнина опилок после твердофазного культивирования на них микромицетов-биодеструкторов древесины

Исследуемый штамм		Содержание лигнина в опыте, г	Убыль лигнина, %
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Проба 1	0,196	5,5±0,0
	Проба 2	0,196	
<i>Paecilomyces variotii</i>	Проба 1	0,085	48,3±0,0
	Проба 2	0,085	
<i>Trichoderma viride</i>	Проба 1	0,231	2,2±2,68
	Проба 2	0,232	
<i>Fusarium spp.</i>	Проба 1	0,237	0±0,00
	Проба 2	0,237	
<i>Exophiala jeanselmei</i>	Проба 1	0,018	54,72±10,51
	Проба 2	0,0183	
<i>Acremonium strictum</i>	Проба 1	0,237	0±0,00
	Проба 2	0,237	
Контроль	Проба 1	0,237	0±2,68
	Проба 2	0,236	

2. Незначительной способностью осуществлять деструкцию лигнина имели микромицеты *Aspergillus fumigatus* и *Trichoderma viride*, убыль лигнина опилок составила 5,5% и 2,2% соответственно.

3. При твердофазном культивировании наибольшей лигнолитической активностью обладают штаммы *Paecilomyces variotii* и *Exophiala jeanselmei* убыль лигнина у которых составляет 48,3% и 54,7% соответственно. Это дает возможность дальнейшего изучения и использования данных микромицетов для деградации лигнинсодержащих отходов.

Заключение

В ходе исследовательской работы была оценена способность грибов, выделенных из КДО, деструктировать лигнинсодержащие отходы. Лигнолитическая активность воздействия микроорганизмов на субстрат подтверждена результатами степени биоконверсии. Микромицеты *Paecilomyces variotii* и *Exophiala jeanselmei* доказали свою эффективность в деградации лигнинсодержащих отходов.

Работа выполнена в рамках проекта МИГ, финансируемого Министерством образования и науки Пермского края соглашение № С-26/796 от 21.12.2017.

### Библиографический список

1. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. – Наукова думка, 1982. – 550 с.
2. Carder J.H. Detection and quantitation of cellulase by Congo red staining of substrates in a cup-plate diffusion assay // Anal. Biochem. – 1986. – V. 153. – P. 75-79.
3. Мокрушина Н.С., Тарасова Т.С., Дармов И.В. Биоконверсия древесных отходов методом компостирования с получением органического удобрения // Изв. Сам. научн. центра РАН. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 228–232.
4. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. Учебное пособие для ВУЗов. М.:Экология.1991. 320с.

### **ПРОДУКЦИЯ СУЛЬФИДА ВОДОРОДА БАКТЕРИЯМИ *ESCHERICHIA COLI* ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТРЕССАХ**

Тюленев А.В., Смирнова Г.В., Безматерных К.В., Октябрьский О.Н.

«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН,  
г. Пермь, Россия

В последнее время все большее внимание уделяется исследованию роли низкомолекулярных серосодержащих соединений в метаболизме бактериальных и эукариотических клеток. Особый интерес представляет сульфид водорода ( $H_2S$ ), эндогенно продуцируемый клетками, который способен повышать устойчивость к окислительному стрессу и различным классам антибиотиков у некоторых видов бактерий [1, 2].

В процессе жизнедеятельности, бактерии постоянно подвергаются различным стрессам, таким как голод по различным субстратам, температурный и осмотический шок, воздействие различных антибактериальных соединений. У бактерий адаптация к стрессам генетически детерминирована и находится под строгим контролем различных регуляторных соединений, одним из которых может выступать  $H_2S$ .

Объект исследования: бактерии *E. coli* BW25113 (*wild type*). Бактерии выращивали на минимальной среде M9 или MOPS с глюкозой, с неорганическим сульфатом в качестве единственного источника серы, при 37°C, в колбах на орбитальном шейкере (150 об/мин). Для исследования изменений продукции эндогенного сульфида применяли стрессовые воздействия: голодание по аминокислотам, источнику углерода или фосфора, а также воздействие ципрофлоксацином (3 мкг/мл) или хлорамфениколом (25 мкг/мл). Стрессовое воздействие осуществляли в середине логарифмической фазы роста при  $OP_{600}=0,4$ . Количество сульфида водорода ( $pS^{2-}$ ) в бактериальной культуре определяли с помощью ионоселективного сульфид-специфического и вспомогательного электродов цифровым ионметром срХ-2 в режиме реального времени.

При наступлении лимитации по указанным субстратам во всех случаях отмечалась остановка роста бактерий и резкое обратимое увеличение продукции  $H_2S$ , регистрируемое как «скачок» потенциала электрода в область отрицательных значений. Аналогичный эффект наблюдался при действии антибиотика ципрофлоксацина и хлорамфеникола. Известно, что при резкой остановке роста, возможно увеличение внутриклеточного пула цистеина [3], способного вступать в реакцию Фентона и приводить к окислительному стрессу [4]. Таким образом, продукция сульфида при стрессах может быть частью защитного механизма клетки, направленного на снижение уровня внутриклеточного цистеина при остановке биосинтеза белка.

*Исследование выполнено в рамках государственного задания № госрегистрации темы 01201353249, а также при поддержке грантами Программы УрО РАН АААА-А18-118041890005-1 и РФФИ № 19-04-00888/19.*

### Библиографический список

1. Shatalin, K. H<sub>2</sub>S: a universal defense against antibiotics in bacteria. / K. Shatalin, E. Shatalina, A. Mironov, E. Nudler // Science. – 2011. – V. 18-334. – P. 986-990.
2. Mironov, A. Mechanism of H<sub>2</sub>S-mediated protection against oxidative stress in Escherichia coli / A. Mironov, T. Seregina, M. Nagornykh [et al] // PNAS. – 2017. – V. 114(23). – P. 6022–6027.
3. Tyulenev, A.V. The role of sulfides in stress-induced changes of Eh in Escherichia coli cultures. / A.V. Tyulenev, G.V. Smirnova, N.G. Muzyka, V.Y. Ushakov, O.N. Oktyabrsky // Bioelectrochemistry. – 2018. – V. 121. – P. 11-17.
4. Park, S. High levels of intracellular cysteine promote oxidative DNA damage by driving the Fenton reaction / S. Park, J.A. Imlay // J. Bacteriol. – 2003. – V. 185(6). – P. 1942-1950.

## ПРОДУКЦИЯ H<sub>2</sub>S БАКТЕРИЯМИ *ESCHERICHIA COLI* ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ

Ушаков В.Ю.<sup>1,2</sup>, Смирнова Г.В.<sup>2</sup>, Октябрьский О.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

Ранее было показано, что в ответ на различные стрессы (температурный и осмотический шок, голодание по источнику углерода, действие антибиотиков и т.д.) в аэробных культурах грамположительных и грамотрицательных бактерий наблюдаются скачки редокс-потенциала (Eh), не связанные прямо с изменениями уровня кислорода (pO<sub>2</sub>). Так, при добавлении хлорамфеникола в среду культивирования бактерий *E. coli* происходило падение Eh в область отрицательных значений. В дальнейшем, было обнаружено, что стресс-индуцируемые изменения редокс-потенциала связаны с изменением концентрации экстраклеточных низкомолекулярных тиолов. Было показано также, что хотя в наиболее высоких концентрациях в среде аккумулируются цистеин и глутатион (GSH), наибольший вклад в сдвиг потенциала вносит сероводород (H<sub>2</sub>S) [2]. Были получены доказательства, что H<sub>2</sub>S может быть компонентом универсального механизма защиты бактерий от действия антибиотиков и окислительного стресса [3]. Учитывая приведенные выше данные, представляет интерес более глубокое изучение роли сероводорода в адаптации бактерий к стрессам.

В представленной работе измерялась продукция H<sub>2</sub>S в штаммах *E. coli*, мутантных по компонентам тиоловых редокс-систем, дыхательной цепи, антиоксидантной защиты и транспорта цистеина. Исследуемые штаммы получены из коллекции Лаборатории генетики и физиологии микроорганизмов ИЭГМ ПФИЦ УрО РАН. Измерение продукции сероводорода определяли по методу, описанному в работе Shatalin et al., [3].

Было проведено измерение продукции сероводорода в условиях пероксидного стресса и при обработке клеток валином и рядом антибиотиков (ципрофлоксацин, хлорамфеникол, тетрациклин, стрептомицин, ампициллин, канамицин). Обработка валином растущих *E. coli* вызывает стресс голода вследствие аминокислотного голодания.

Продукция сероводорода при нормальном росте *E. coli* на среде M9 с добавлением казаминовых кислот зависела от характера мутации: минимальный уровень был обнаружен у мутантов *cydD*, *soxS*, *katG* и *sodC*, максимальный - у бактерий, лишенных глутатиона и белка-регулятора OxyR. В отсутствие казаминовых кислот продукция H<sub>2</sub>S у этих мутантов не наблюдалась. Показано статистически достоверное увеличение уровня экстраклеточного H<sub>2</sub>S у бактерий *E. coli* родительского штамма и у мутантов по синтезу глутатиона при остановке

роста, вызванной истощением глюкозы в среде культивирования. Повышение продукции сероводорода наблюдалось также при обработке мутантных клеток *gshA*, *relA*, *relAgshA* валином (0.5 мг/мл), но отсутствовало у бактерий дикого типа. В отличие от бактерий родительского типа, обработка мутантов *gshA*, *relA*, *relAgshA* хлорамфениколом, тетрациклином и ципрофлоксацином приводила к повышению продукции H<sub>2</sub>S. Добавление к растущим культурам стрептомицина, канамицина и ампициллина не вызывало выхода H<sub>2</sub>S у всех исследуемых штаммов бактерий. Продукция сероводорода отсутствовала при обработке исследуемых штаммов 1 мМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. В культурах *E. coli*, мутантных по транспорту цистеина, статистически достоверное выделение H<sub>2</sub>S при действии валина (0.5 мг/мл) отмечено лишь в том случае, если эти мутации сочетались с мутацией по синтезу глутатиона (*eamAgshA* и *eamAeamBbcrgshA*). В тех же условиях продукция сероводорода отсутствовала в штаммах, дефектных по различным путям метаболизма цистеина (*cysM*, *mtsA*, *cyuA*, *cyuP*, *cyuR*, *iskS*, *tnaA*, *eamA*, *eamB*).

Работа выполнена в соответствии с государственным заданием № 01201353249, поддержана грантом РФФИ № 19-04000888 и грантом Программы УрО РАН № АААА-А18-118041890005.

### Библиографический список

1. Oktyabrskii O.N. Redox potential changes in bacterial cultures under stress condition / O.N. Oktyabrskii, G.V. Smirnova // *Microbiology* 2012, V.81(2), P.131-142
2. Tyulenev A.V. The role of sulfides in stress-induced changes of Eh in *Escherichia coli* cultures / A.V. Tyulenev, G.V. Smirnova, N.G. Muzyka, V.Y.Ushakov, O.N. Oktyabrsky // *Bioelectrochemistry* 2018, V.121, P. 11-17.
3. Shatalin K. H<sub>2</sub>S: A universal defense against antibiotics in bacteria /K. Shatalin, E. Shatalina, A. Mironov, E. Nudler // *Science* 2011, V. 334, P. 986–990.

## ИЗУЧЕНИЕ ТРОФИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ СВОБОДНОЖИВУЩЕЙ НЕМАТОДЫ *CAENORHABDITIS ELEGANS* С НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ *ALCANIVORAX BORKUMENSIS* В ПРИСУТСТВИИ СЫРОЙ НЕФТИ.

Фахруллина Г.И., Нигаматзянова Л.Р., Шайхулова С.Ф., Ишмухаметов И.Р., Ахатова Ф.С.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия

**Научный руководитель: д.б.н. Фахруллин Р.Ф.**

В настоящее время одной из глобальных экологических проблем мирового масштаба является загрязнение окружающей среды сырой нефтью и продуктами ее переработки [1]. В литературе описана более эффективная биodeградация нефтепродуктов при кооперации первичных нефтеструктуров с организмом более высокого уровня в пищевой цепи [2].

Целью работы явилось изучение трофических отношений свободноживущей нематоды *Caenorhabditis elegans* с нефтеокисляющими бактериями *Alcanivorax borkumensis* в присутствии сырой нефти.

В качестве сырья использовали нефть Нурлатского месторождения (Республика Татарстан), плотность которого при 20 °С – 905 кг/м<sup>3</sup>, кинематическая вязкость при 20 °С – 72,9 мм<sup>2</sup>/с, температура начала кипения – 73 °С.

Проведена оценка способности нематод к росту и размножению в присутствии нефти в питательной среде с добавлением обычного пищевого субстрата нематод (бактерии *Escherichia coli*) или нефтеразлагающих бактерий *A. borkumensis*. Выявлено, что нематоды растут на 8.3 % лучше и репродуктивность на 14 % выше в среде с нефтью при добавлении в



качестве пищи нефтеразлагающих бактерий *A. borkumensis* по сравнению с *E. coli*. При кормлении нефтью и смесью этих двух бактерий длина тела нематод выше на 11.3 % и количество яиц на 23.9 % больше, чем при выращивании в среде только с обычной пищей *E. coli* и нефти. Пересев нематод после кормления в течение 48 часов бактериями *A. borkumensis* на среду с *E. coli* и нефтью на 24 часа привел к значительному снижению роста и фертильности (на 15.7 % и на 45.4 %, соответственно) животных относительно нематод, выращенных по такой же схеме, но без добавления нефти. Развитие и фертильность у нематод, употреблявших нефть и бактерии-нефтедеструкторы *A. borkumensis* в течение 24 часов после выращивания в течение 48 часов бактериями *E. coli* значительно выше (на 18.8 % и на 40.1 %, соответственно) по сравнению с животными, которые были пересажены в среды с нефтью и *E. coli* после кормления *A. borkumensis*. Эти результаты свидетельствуют о лучшей способности нематод к росту и размножению в средах, контаминированных нефтью, в присутствии нефтеразлагающих бактерий *A. borkumensis*.

Оптические микрофотографии показали наличие бактерий *A. borkumensis* и нефтяных включений исключительно по всей длине кишечника нематод спустя 72 часа инкубирования. Бактерии и включения нефти высвобождались из пищеварительного тракта нематод в процессе линьки и дефекации.

Мы полагаем, что полученные результаты исследований взаимоотношения нематоды *C. elegans* с нефтеокисляющей бактерией *A. borkumensis* в системе «хозяин-микробиота» станут инструментом для разработки способов повышения эффективности биологической очистки нефтезагрязненных систем.

#### Библиографический список

1. Applications of biosurfactants in the petroleum industry and the remediation of oil spills / R.C.F.S. Silva, D.G. Almeida, R.D. Rufino et al. // Int. J. Mol. Sci.– 2014. – Vol. 15, № 7. – P. 12523-12542.

2. Effects of bacterial-feeding nematodes on soil microbial activity and the microbial community in oil-contaminated soil / J. Zhou, D. Chen, R. Huang, G. Huang et al. // J Environ Manage. – 2019. – V. 234 – P. 424-430.

## ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ НА КОЛИЧЕСТВО ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ФЕРМЕНТИРОВАННОЙ БИОМАССЕ

Хайбуллин Р.Г.

ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д. м. н., профессор, Волкова Л.В.**

Одним из перспективных подходов к повышению эффективности ферментации растительной биомассы может рассматриваться использование пробиотических микроорганизмов рода *Lactobacillus*, интенсифицирующих протекание биохимических процессов в реакционной среде и обогащающих получаемый продукт метаболитами [1]. Внедрение стадии ультразвуковой предобработки сырья позволит увеличить сокоотделение, выход БАВ и окислительных ферментов во внешнюю среду за счет разрушения клеточных оболочек. Все это интенсифицирует дальнейший процесс ферментации, за счет повышения доступности протекания биохимических реакций [2].

Таким образом, внедряя стадию ультразвуковой обработки растительного сырья для последующей микробной ферментации, можно предположить получение более обогащенного БАВ ферментированного фитопродукта по сравнению с продуктами, полученным другими методами. В соответствии с этим, целью исследования является оценка

влияния ультразвуковой обработки растительного сырья на состав конечного ферментированного фитопродукта.

#### Экспериментальная часть

В качестве растительного сырья использовали листья топинамбура (*H.tuberosus*) содержащие в своем составе широкий спектр БАВ. [3]. Для ультразвуковой обработки растительного сырья применяли ультразвуковой гомогенизатор UP50H (Hielscher, Германия). Растительное сырье в количестве 25 г измельчали, помещали в стакан, добавляли 10 мл стерильной водопроводной воды. В стакан с приготовленным сырьем опускали наконечник прибора и осуществляли воздействие ультразвуковыми волнами при постоянных параметрах мощности 50 Вт и частоте 30 кГц, заданных конструкцией прибора, варьируя при этом время обработки [4]. Степень деструкции клеточных стенок оценивали методом микроскопии.

Ферментацию биомассы *H.tuberosus* проводили, используя методику, разработанную в предыдущем исследовании [5]. Готовили водные извлечения полученных продуктов и проводили их количественный анализ на содержание экстрактивных веществ согласно общей фармакопейной статье ОФС 1.5.3.0006.15.

#### Результаты и их обсуждения

Деструкцию растительных клеток ультразвуком проводили в течение 30 минут, каждые 10 минут отмечая степень разрушения клеточных стенок методом микроскопии (рис. 1).

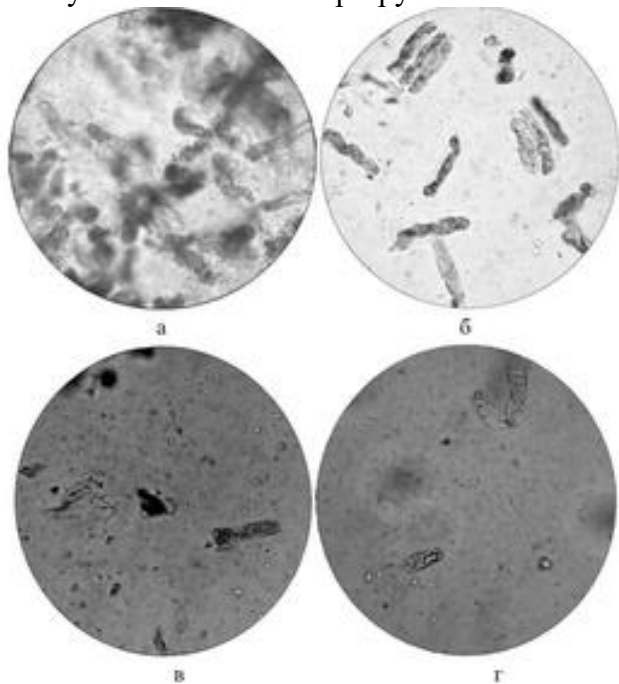


Рис. 1. Растительные клетки топинамбура при обработке ультразвуком; а – до обработки; б – после 10 минут обработки; в – после 20 минут обработки; г – после 30 минут обработки

Таким образом, наиболее полное разрушение клеточных стенок наблюдалось спустя 30 минут обработки растительного сырья.

Далее, были получены ферментированные фитопродукты из предварительно обработанных ультразвуком листьев *H. tuberosus*. Определили содержание экстрактивных веществ в полученных продуктах и провели сравнение с продуктами, полученными ранее [5] без ультразвуковой обработки (таблица 1).

Содержание экстрактивных веществ в полученных образцах

Метод получения образца	Технологические параметры		Экстрактивные вещества, %
	Температура, °С	Время, ч	
Ферментация м/о <i>Lactobacillus</i>	40	30	43,83 ± 2,02*
Ферментация м/о <i>Lactobacillus</i>	40	10	37,04 ± 1,54
УЗ-обработка + Ферментация м/о <i>Lactobacillus</i>	40	10	45,59±1,27*

*Примечание: \*p ≤ 0,05 по критерию Стьюдента относительно ферментации при температуре 40 °С и времени 10 ч*

Установлено повышение содержания экстрактивных веществ в образце, прошедшем предобработку ультразвуком и далее ферментированном в течение 10 часов при температуре 40 °С, по сравнению с фитопродуктом ферментированном в течение 30 часов и температуре 40 °С.

Таким образом, принимая во внимание полученные данные, можно сделать предварительный вывод о целесообразности введения стадии ультразвуковой обработки растительного сырья с целью повышения выхода БАВ при дальнейшей его ферментации.

#### Библиографический список

1. Бондаренко, В. М. Метаболитные пробиотики: механизмы терапевтического эффекта при микробиологических нарушениях // Антибиотики и химиотерапия. – 2000. – № 2. – С. 28–36.
2. Vinatoru, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs / M. Vinatoru. // *Ult. Sonochemistry*, – 2001. – Vol. 8, № 3. – С. 303-313.
3. Арсеньева Т.П., Яковлева Ю.А., Фещенко В.. Топинамбур как средство лечения и профилактики различных заболеваний. // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств», Т. 1, 2011, С. 47-50.
4. Акопян, В. Б. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами / В. Б. Акопян, Ю. А. Ершов. – М. : Изд-во МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2005. – 224 с.
5. Хайбуллин Р.Г., Волкова Л.В. Оптимизация микробной ферментации растительного сырья для получения фитосбора с биологически активными свойствами / Р. Г. Хайбуллин, Л. В. Волкова // Химия. Экология. Урбанистика : материалы Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых, аспирантов, студентов и школьников (с междунар. участием) - Пермь : Изд-во ПНИПУ, 2018. - С. 634-638

## БИОКАТАЛИТИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ НИТРОСОЕДИНЕНИЙ И ПРОИЗВОДНЫХ ХИНОЛИНА

Халитова А.И.,<sup>2</sup> Максимов А.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Биокатализ и биотрансформация являются ведущим направлением современной биотехнологии, используемым для синтеза промышленно-значимых веществ, получения новых товаров, а также для решения экологических проблем [2].

Нитроароматические соединения широко распространены в окружающей среде из-за их массового использования в качестве компонентов и сырья для производства красителей, лакокрасочных материалов, пластических масс, фунгицидов, бактерицидов, гербицидов, взрывчатых веществ и др [5]. Нитроароматические соединения высвобождаются в биосферу почти исключительно из антропогенных источников. Некоторые соединения получаются вследствие неполного сгорания ископаемого топлива; другие используются в качестве промежуточных продуктов синтеза. Недавние исследования выявили ряд микробных систем, способных трансформировать или разлагать нитроароматические соединения [4].

Хинолин обладает антисептическим, бактерицидным и жаропонижающим действием, но ввиду очень высокой токсичности в медицине не применяется. А. М. Бутлеровым и А. Н. Вышнеградским было доказано, что хинолин является структурной основой молекулы хинина. Это обстоятельство послужило толчком для исследований в области создания противомаларийных и других лекарственных средств в ряду производных хинолина [1]. Известно сравнительное изучение эффективности деградации хинолина свободно суспендированными и иммобилизованными клетками *Comamonas* sp. [3].

Цель работы: выделение и исследование культур бактерий, способных к трансформации и утилизации органических нитратов и хинолинов.

Объектом исследования являлись почвенные микроорганизмы таёжной зоны России, трансформирующие нитросоединения, выделенные из образцов почв естественной среды Пермского края.

Установлено, что бактерии, активно утилизирующие органические нитраты, представлены как в почвах и донных отложениях естественной среды (подзолистой супесчаной почве Соликамского р-на, с. Городище; донных отложениях р. Сюзьва) так и в техногенно-измененных грунтах и донных отложениях стоков ОАО «Камтэк».

Консорциумы бактерий, активно утилизирующие органические нитраты, выделены из образцов техногенно-измененных грунтов и донных отложений промышленных стоков. Микрофлора естественных сред утилизировала эти соединения менее эффективно.

В результате идентификации по последовательностям генов 16S рНК установлено, что 3 активные культуры относятся к гамма-протеобактериям рода *Pseudomonas* (2 штамма *Pseudomonas fluorescens* и 1 штамм *Pseudomonas extremaustralis*), 4 культуры *Bacillus pumilus*, 3 культуры *Bacillus thuringiensis* и 4 штамма *Rhodococcus erythropolis*.

Исследована кинетика роста активных штаммов бактерий на среде N с использованием разных ростовых субстратов (глюкозы, ацетата) в качестве единственного источника углерода и коллоксилина, нитрофенола, нитробензола, динитробензола и производных хинолина в качестве источников азота. Показано, что часть активных культур была не способна к глубокой биодegradации ароматических и полимерных нитратов и производных хинолина, а трансформировали эти субстраты до органических соединений, обладающих амино- и амидными группами.

Установлено, что наиболее активно биотрансформация органических нитросоединений исследуемыми штаммами родококков проходила при использовании в качестве источника углерода 0,1% глюкозы и 0,1% нитроароматического соединения или 1-5% коллоксилина при температуре среды 28-30°C и слабощелочных значениях рН 7,2-8,0.

Смоделированы процессы биотрансформации полимерного нитросоединения коллоксилина с получением азотного биоудобрения. Установлено, что получаемые в результате компостирования продукты биодegradации представляют собой комплексную субстанцию, содержат амидные и аминогруппы. Показано, что на основе 1 г (по сухому весу) коллоксилина в течение 30 сут ферментации получается 0,92 г (по сухому весу) гетерогенного азотсодержащего полимерного удобрения. Снижение значения сухой массы, вероятно, является результатом окислительно-восстановительных и гидролитических реакций, приводящих к потере некоторых групп и частичной деполимеризации субстрата. Установлено, что полученная субстанция достаточно быстро разлагается в почве, повышая скорость роста вегетативной массы модельных растений (перец, томаты). Предварительный

анализ на бактериальных тест-системах показал отсутствие токсического и мутагенного действия полученного потенциального удобрения.

Культуры, наиболее активно использующие нитраты как источник углерода и азота, были выделены только из техногенно-измененных сред.

*Работа поддержана грантом РФФИ 16-44-590359.*

#### **Библиографический список**

1. Мелентьева Г.А., Антонова Л.А. «Фармацевтическая химия». – Москва, – 1985. – 480 с.
2. Arora, Kumar P. Integration of bioinformatics to biodegradation // Biological Procedures Online. – 2014. – V. 16. – P. 1-10.
3. Fanzhong C., Mingchao C., Jiamo F., Guoying S., Guoping S., Meiyong X. Biodegradation of quinoline by freely suspended and immobilized cells of *Comamonas* sp. strain Q10 // J. Gen. and Appl. Microbiol. N 2 – 2003. – V. 49. – P. 123 – 128.
4. Kulkarni M., Chaudhari A. Microbial remediation of nitro-aromatic compounds: An overview // Journal of Environmental Management – 2007. – Vol. – 1. – P. 17.
5. Spain C. Biodegradation of nitroaromatic compounds // Armstrong Laboratory. – 1995. – P.524 – 549.

## **РОЛЬ ГЕНОВ ПОЛИАМИНОВОГО МОДУЛОНА В ФОРМИРОВАНИИ ПЕРСИСТОРНОГО СОСТОЯНИЯ *ESCHERICHIA COLI***

Хаова Е.А.<sup>1,2</sup>, Ткаченко А.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН,  
г. Пермь, Россия

Бактериальная персистенция является основной причиной рецидивов инфекционных заболеваний. В основе формирования персистенции лежат механизмы общего стрессорного ответа. Ранее нами показано участие в персистенции *Escherichia coli* полиамин(ПА)-зависимых генов *relA* и *spoT*, кодирующих (p)ppGpp-синтетазы I и II соответственно, гена *groS*, кодирующего ключевой регулятор стресс-индуцируемого регулона стационарной фазы, а также генов *rmf* и *uqjD*, кодирующих факторы гибернации рибосом [1]. Принадлежность изученных нами ранее генов персистенции к ПА модулону [2] способствовала формированию предположения, что в персистенции могут участвовать также и другие ПА-регулируемые гены, в том числе *hns*. Его продукт функционирует совместно с H-NS-подобным белком *StpA* в качестве глобального регулятора генной экспрессии, который кодируется (p)ppGpp-зависимым геном *stpA* [3]. В сферу нашего внимания вошли также гены *hpf*, *raiA*, *ettA*, *rsfS*, кодирующие факторы гибернации рибосом [4], способные участвовать в персистообразовании. Потенциальная принадлежность некоторых из них к ПА модулону подтверждается наличием минорных неэффективных старт-кодонов.

Целью данной работы является изучение возможной роли перечисленных генов в персистообразовании *E. coli*, а также регуляторных эффектов полиаминов в их экспрессии.

Исследования проводили на модельном организме *Escherichia coli* штамма BW25141 в условиях периодического культивирования на питательной среде LB. Генные нокауты получены с помощью системы сайт-специфической рекомбинации Flp-FRT. Экспрессию на трансляционном уровне исследовали с использованием сконструированных нами *lacZ*-слияний. Уровни представленности транскриптов исследуемых генов изучены методом ПЦР в реальном времени, сопряженной с обратной транскрипцией. Полученные данные нормализованы методом  $\Delta C_t$  с использованием гена «домашнего хозяйства» *rpoZ* в качестве

референсного. Частоту персистенции определяли методом Keren et al. [5] при воздействии на клетки нетилмицина в концентрации 1,4 мкг/мл в течение 3 ч. Показатель частоты персистенции указывает, какую долю составляют персисторы в бактериальной культуре. Этот показатель варьирует в зависимости от фазы роста периодической культуры, условий среды и других факторов, влияющих на рост микроорганизмов. Исходя из этого, максимальный уровень персистенции родительского штамма предположительно должен совпадать по времени (фазе роста) с наибольшим уровнем экспрессии исследуемых генов и максимальным отрицательным эффектом генных нокаутов.

Согласно результатам исследования, максимальный уровень представленности транскриптов *relA* наблюдается в ранней стационарной фазе, а *spoT* – в поздней стационарной фазе. При этом ранее опубликованные данные показали, что мутанты с делециями *relA* и *spoT* имеют на несколько порядков ниже значения частоты персистенции по сравнению с родительским штаммом и демонстрируют максимальный отрицательный эффект в поздней стационарной фазе [1]. Это свидетельствует о преобладающей роли ПА-зависимого гена *spoT* в регуляции персистенции в поздней стационарной фазе по сравнению с *relA*.

Результаты исследования показывают, что наибольший уровень экспрессии гена *proS* на транскрипционном уровне наблюдается в начале перехода от экспоненциальной в стационарную фазу, а на трансляционном уровне – в ранней стационарной фазе. Такая разобщенность по времени разных уровней экспрессии находит подтверждение в литературных данных: мРНК *proS* имеет на 5'-конце вторичную структуру, которая нарушает доступность кодона инициации для рибосом [3]. В оптимальных условиях роста трансляция *proS* выключена, но быстро возрастает при стрессе, в т.ч. в стационарной фазе. Исследование демонстрирует также, что наибольший отрицательный эффект делеции *proS* совпадает по времени с максимальным уровнем трансляции *proS* и ее наиболее выраженной положительной модуляцией полиаминами. Данные результаты указывают на то, что ПА-зависимый ген *proS* участвует в регуляции персистенции преимущественно в ранней стационарной фазе.

В отличие от этого, гены *rmf* и *yqjD*, вносят наибольший вклад в регуляцию персистообразования в поздней стационарной фазе. Хотя максимальный уровень мРНК этих генов наблюдается в ранней стационарной фазе, их трансляционная активность достигает максимума в поздней стационарной фазе, когда  $\Delta rmf$ - и  $\Delta yqjD$ -мутанты показывают наиболее значительное снижение частоты персистенции по сравнению с родительским штаммом. Гены *hpf*, *raiA*, *ettA*, *rsfS*, кодирующие, как *rmf* и *yqjD*, факторы гибернации рибосом, демонстрируют наибольший уровень транскрипционной активности, совпадающий с возрастанием уровня персистенции родительского штамма, в ранней стационарной фазе.

Несмотря на совместное функционирование ДНК-связывающих белков StpA и H-NS [3], экспрессия соответствующих генов на транскрипционном уровне разобщена во времени: максимум экспрессии *hns* наблюдается при переходе в стационарную фазу, тогда как *stpA* – в поздней стационарной фазе. Полученные результаты находят объяснение в данных литературы, свидетельствующих о том, что HNS ингибирует транскрипцию *stpA* [3]. Поэтому во время снижения экспрессии *hns* уровень мРНК *stpA* возрастает. Однако это не приводит к увеличению StpA, т.к. в отсутствие HNS белок быстро подвергается протеолизу [3]. Из этого следует, что наибольшая экспрессия генов *hns* и *stpA* на транскрипционном уровне наблюдается в момент возрастания частоты персистенции родительского штамма. При этом H-NS обладает большей функциональной активностью по сравнению с StpA.

Таким образом, на основании комплексной оценки результатов обратной генетики и полученных данных об экспрессии генов на транскрипционном и трансляционном уровнях можно заключить, что изученные ПА-зависимые гены играют значительную роль в регуляции персистенции. Их вклад в персистообразование варьирует в зависимости от глубины стационарной фазы.

Работа выполнена в рамках государственного задания (номер госрегистрации темы: 01201353249).

#### Библиографический список

1. Хаова Е.А., Кашеварова Н.М., Шумков М.С., Сидоров Р.Ю., Ткаченко А.Г. Роль генов общего стрессорного ответа в формировании бактериальной персистенции//Вестник Пермского университета. Серия Биология. 2018. Вып. 4. с. 393-401.
2. Igarashi K., Kashiwagi K. Polyamine Modulon in *Escherichia coli*: genes involved in the stimulation of cell growth by polyamines//The Journal of Biochemistry. 2006. Vol. 139, №1. p. 11-16.
3. Ткаченко А.Г. Молекулярные механизмы стрессорных ответов у микроорганизмов. – Екатеринбург: УрО РАН. 2012. 268 с.
4. Prossliner T., Winther K.S., Sorensen N.A., Gerdes K. Ribosome hibernation//Annual Review of Genetics. 2018. Vol. 52. p. 321-348.
5. Keren N., Kaldalu A., Spoering A., Wang Y., Lewis K. Persister cells and tolerance to antimicrobials//FEMS. 2004. Vol. 230, №1. p. 13-18.

## ДИНАМИКА СОВМЕСТНОГО РОСТА СИМБИОНТОВ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА *CUTIBACTERIUM ACNES* И *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

Худеева В.М.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный аграрно-технологический университет им.ак.  
Д.Н.Прянишникова», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н. Полюдова Т.В.**

Микробный барьер кожи человека представлен огромным разнообразием бактерий, вирусов, грибов. До 99% микрофлоры здоровой кожи представлено бактериями *Cutibacterium acnes* и *Staphylococcus epidermidis*, а также дрожжами *Malassezia* [1]. При некоторых заболеваниях в очагах воспаления преобладают эти же бактерии. Вместе с тем, особенности взаимного существования разных родов бактерий до сих пор остаются неизученными.

Объектами исследования явились бактерии *S. epidermidis* ATCC 29887 и *C. acnes* ВКМ Ас-1450, которые выращивали в жидкой среде LB (160 об/мин, 37°C). Для получения смешанной культуры суспензии бактерий ( $10^7$  КОЕ/мл) *S. epidermidis* и *C. acnes* смешивали 1:1 и засеивали в LB-бульон в соотношении 1:10. За ростом следили по изменению оптической плотности (ОП при 600 нм) (PD-303, «Apel», Япония) и количества колониеобразующих единиц в мл (КОЕ/мл).

При культивировании бактерий в условиях интенсивной аэрации динамики роста *S. epidermidis* и *C. acnes* были не одинаковы (рис. 1А).

Аэробные бактерии *S. epidermidis* уже через 3 ч переходили в экспоненциальную фазу развития и через 5-6 ч в стационарную, продолжавшуюся более суток без признаков отмирания популяции. Для микроаэрофильных бактерий *C. acnes* потребовалась стадия преадаптации (более 6 ч) к кислородным условиям, после чего их биомасса начинала стремительно увеличиваться, а стационарная стадия наступила не ранее, чем через 24 ч. Количество КОЕ/мл в смешанных культурах возрастало согласно динамике ОП600. Однако соотношение бактерий разных видов изменилось уже в первые часы инкубации при интенсивном аэрировании (Рис.1Б). В смешанной популяции сразу начинали доминировать стафилококки. Уже через 6 ч развития бактерии *C. acnes* практически не обнаруживались.

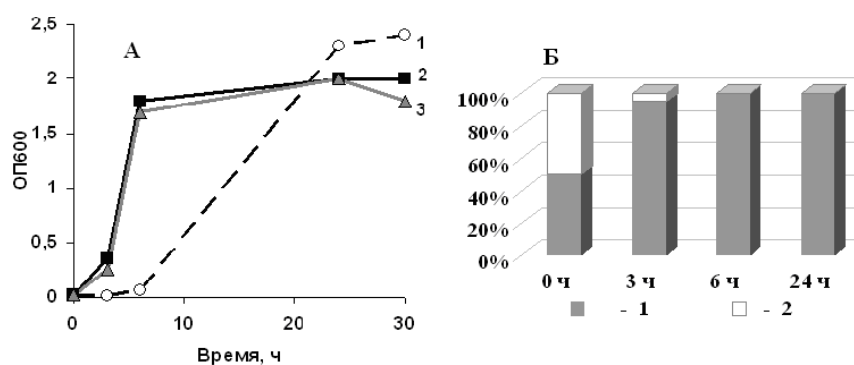


Рис. 1. А - Кривые роста моно- и смешанной культур. 1- *C.acnes* ВКМ Ас-1450, 2 - *S. epidermidis* ATCC 29887, 3 - *C.acnes* ВКМ Ас-1450 + *S. epidermidis* ATCC 29887. Б - Соотношение КОЕ/мл *S. epidermidis* ATCC 29887 (1) и *C.acnes* ВКМ Ас-1450 (2).

Изучение динамики совместного роста *C. acnes* и *S. epidermidis* в микроаэрофильных и анаэробных условиях моделировали в 96-луночных планшетах («Медполимер», Россия), анаэробноз создавали с использованием «свечной банки». Одновременно с ростом бактерий в жидкой среде, фиксировали их способность к закреплению на твердой поверхности. Определяли показатели общей биомассы культур (ОП600 спектрофотометр «BioRad», США) и биопленок после их окрашивания 0,1% раствором кристаллического фиолетового, экстрагированного 96% этанолом, ОП экстрактов измеряли при 570 нм.

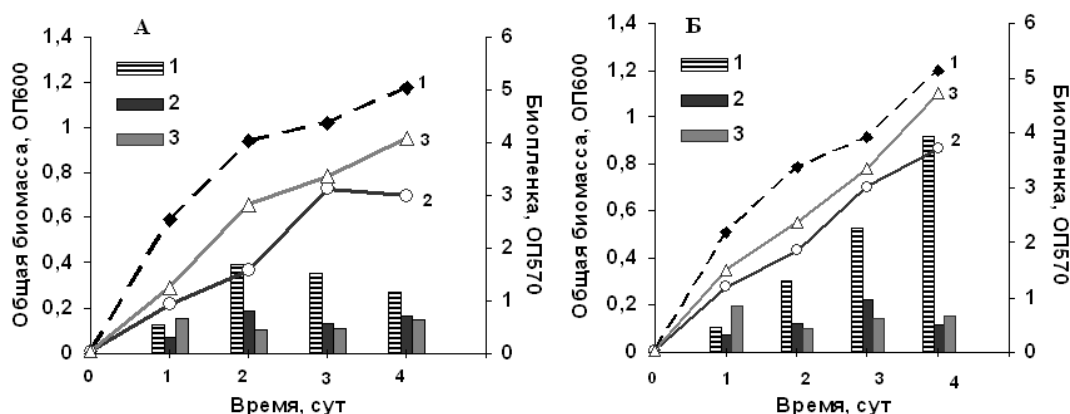


Рис.2. Динамика изменения биомассы культур (линии) и биопленок (столбики), в микроаэрофильных (А) и анаэробных (Б) условиях. 1 - *C.acnes* ВКМ Ас-1450; 2 - *S. epidermidis* ATCC 29887; 3 - *C.acnes* ВКМ Ас-1450 + *S. epidermidis* ATCC 29887.

Динамика общей биомасса культур была примерно одинаковой, как в микроаэрофильных условиях, так и в анаэробных (рис. 2). В обоих случаях наименьшая биомасса планктона и биопленок была выявлена в монокультуре *S. epidermidis* ATCC 29887 и не было обнаружено различий при культивировании в условиях разной аэрации. Динамика развития планктонных бактерий *C. acnes* также не зависела от степени насыщенности среды кислородом, однако, биопленки *C. acnes* формировались по-разному. В условиях анаэробноза эти бактерии формировали мощную биопленку, биомасса которой линейно возрастала со временем. В микроаэрофильных условиях бактерии *C. acnes* формировали биопленки менее активно и их биомасса после 2 суток практически не менялась.

В планктоне смешанной культуры через 2 суток инкубации выявлялись лишь бактерии *C.acnes*, причем в условиях анаэробноза вытеснение стафилококков происходило быстрее (Рис.3).



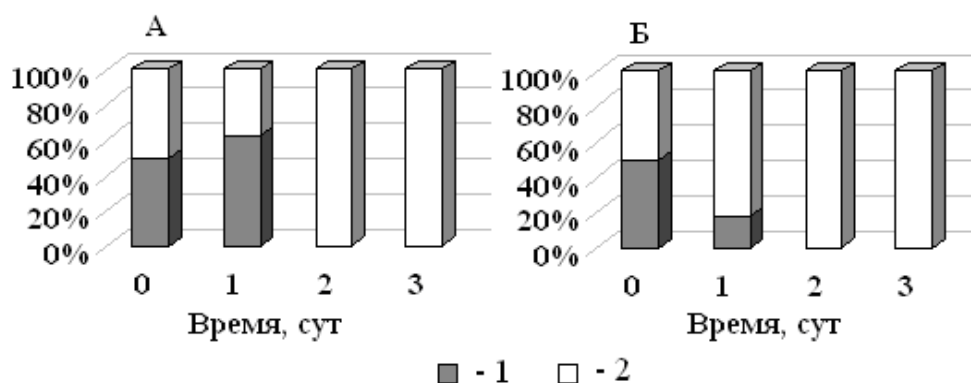


Рис. 3. Соотношение бактерий *S. epidermidis* ATCC 29887 (1) и *C. acnes* ВКМ Ас-1450 (2) в микроаэрофильных (А) и анаэробных (Б) условиях

Нами также было показано, что бактерии *S. epidermidis* ATCC 29887 имеют выраженное сродство к полистиролу. Адгезию оценивали при прямом подсчете бактерий (микровизор «Ломо», Россия) через 30 мин инкубации их суспензии ( $10^7$  КОЕ/мл) в полистироловой чашки Петри. Было выявлено  $45 \pm 8$  клеток стафилококков в поле зрения, в то время как для *C. acnes* лишь  $7 \pm 3$  клеток в поле зрения. Слабое развитие биопленки смешанной культурой, вероятно связано с тем, что бактерии *S. epidermidis*, имея большее сродство к полистиролу, препятствуют адгезии *C. acnes* к этой поверхности. Отсутствие способности к коагрегации между бактериями разных видов не позволяют бактериям *C. acnes* ВКМ Ас-1450 использовать сорбированные на полистироле стафилококки в качестве кондиционной пленки. В этой связи, можно предположить, что в условиях низкой аэрации *C. acnes* существуют в планктонной форме, а бактерии *S. epidermidis* адгезируются на поверхности полистирола.

Таким образом, соотношение бактерий разных видов в сообществе из *S. epidermidis* и *C. acnes* зависит от условий аэрации. При интенсивном аэрировании среды доминирующим видом является *S. epidermidis*, в микроаэрофильных и анаэробных условиях конкурентным преимуществом обладают бактерии *C. acnes*. Вероятно, что в естественных условиях обитания (на коже человека) эти бактерии занимают разные узкоспециализированные экологические ниши.

#### Библиографический список

1. Полеско И. В., Осипова Г. А., Кабаева Т. И. Микроэкология организма человека при себорее и акне. // Детские инфекции. 2006. №3. С. 26-33.

## ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРЯМОГО ОРГАНОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ ЗРЕЛЫХ ЗАРОДЫШЕЙ КУКУРУЗЫ

Хумуд Б.М.Х., Куцев Д.С., Подсевалов С.Д.

ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский университет имени Н.Н. Чернышевского», г. Саратов, Россия

**Научный руководитель: доцент, д.б.н., Юдакова О.И.**

Культура тканей и органов широко используется для ускорения селекционного процесса. Регенерация растений *in vitro* может происходить как посредством прямого органогенеза за счет активации существующих меристем экспланта, так и через каллусные культуры с последующим развитием эмбриоидов и побегов *de novo*. При образовании каллуса возникает риск соматональной изменчивости, которая нежелательна при клонировании уникальных генотипов и проведении генноинженерных исследований. В настоящее время для кукурузы разработаны различные технологии регенерации растений *in vitro*

*in vitro* посредством соматического эмбриогенеза [1, 2], однако в направлении индукции прямого органогенеза делаются лишь первые шаги [3-5].

Целью настоящего исследования было изучение гистологических особенностей прямого органогенеза в культуре зрелых зародышей у кукурузы.

Материалом исследования послужила линия КМ (Коричневый маркер). В качестве первичного экспланта использовали зрелые зародыши. Зерновки стерилизовали 70% этиловым спиртом и 0,1% ртутьсодержащим раствором. Из стерильных зерновок вычленили зародыши и пассировали их в чашки Петри на искусственную питательную среду Мурасиге-Скуга (MS) с добавлением витаминов по прописи среды, 20 г/л сахарозы, 7 г/л агара (Panreac) без гормонов.

Для индукции морфогенеза развившийся проросток через 7 сут от начала культивирования срезали и переносили на среду MS с добавлением 6-бензиламинопурина (БАП) в концентрации 0,5 или 2,0 мг/л.

Для гистологического анализа часть проростков, развившихся на среде для размножения, фиксировали ацеталкоголем (3:1). Анализ проводили на временных препаратах продольных и поперечных срезов проростков, приготовленных с использованием метода просветления тканей. Фотографирование осуществляли с помощью бинокулярного микроскопа «Discovery» (C.Zeiss, Германия) и программы визуализации изображения «Zoombrauser».

На средах для размножения у проростков в зоне базального среза клетки приобретали коричневую окраску, каллус не формировался. На среде, дополненной 0,5 мг/л БАП, через 3-4 нед культивирования проростки состояли из нескольких укороченных междоузлий и имели 4-5 настоящих листьев. В зоне узла, ближайшего к поверхности питательной среды, в пазухе листа формировались 2-3 пазушные почки, которые затем прорастали в пазушные побеги.

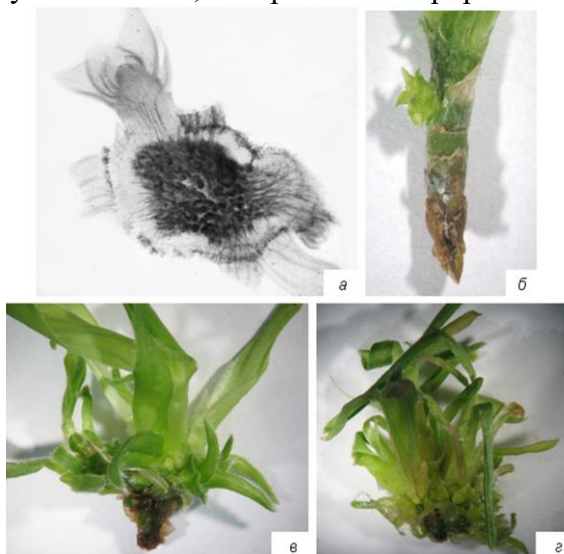


Рисунок. Развитие пазушных побегов на проростках кукурузы на среде MS с 2,0 мг/л БАП: а – развитие пазушной почки через 2 нед культивирования (поперечный срез через проросток); б – пазушные побеги на 3 и 4 нед культивирования; в – регенерант с многочисленными минипобегами через 5 нед культивирования

Увеличение концентрации БАП в среде до 2,0 мг/л укоряло процесс образования пазушных побегов. Почки формировались уже на первой и второй недели культивирования (см. рисунок а), пазушные побеги – через 3-4 нед культивирования. Их количество увеличивалось до 7-10. При этом пазушные почки развивались не только в зоне ближайшего к поверхности среды узла, но и на выше расположенных узлах. Через 5 нед регенерант представлял собой пучок из укороченных побегов, связанных между собой единой проводящей системой.

Для удлинения развившихся пазушных микропобегов их, не разделяя, переносили на среду MS с пониженным до 0,2 мг/л содержанием БАП. После удлинения побегов, их вновь пассировали на среду для размножения (MS с 0,5 или 2,0 мг/л БАП) или переводили на среды с ауксинами для дальнейшего укоренения.

Таким образом, было показано, что на среде для размножения, дополненной БАП в концентрации 0,5 или 2 мг/л БАП, происходит активации интеркалярных меристем и образование в зоне узлов пазушных почек, которые затем прорастают в боковые побеги. Развитие дополнительных побегов из существующих меристем экспланта способствует сохранению генетического единообразия культивируемого растительного материала, что позволяет использовать данную технологию для размножения элитных генотипов и проведения генноинженерных исследований.

*Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках базовой части государственного задания в сфере научной деятельности по заданию №6.8789.2017/БЧ.*

### **Библиографический список**

1. Huang, X.Q., Wei, Z.M., 2004. High-frequency plant regeneration through callus initiation from mature embryos of maize (*Zea mays* L.) Plant Cell Rep. 2004. № 22. P. 793-800.
2. Garrocho-Villegas V., de Jesús-Olivera M.T., Quintanar E.S. Maize somatic embryogenesis: recent features to improve plant regeneration // Plant cell culture protocols. Methods in molecular biology (Methods and protocols) /eds. V.Loyola-Vargas, N.Totowa, N.Ochoa-Alejo: Humana Press (eds), 2012. V. 877. P. 173-187.
3. Ahmad, M.Z., Hussain, I., Ahmed, S., Roomi, S., 2017. Direct *in vitro* multiple shoot regeneration in maize (*Zea mays*) inbred lines. J Innov Bio-Res. 2017. № 16, V. 1. P. 24-29.
4. Ovchinnikova, V.N., Sotchenko, V.S., Sotchenko, Y.V. et al. Susceptibility of maize mesocotyl culture to agrobacterium transformation and its *in vitro* regeneration //Appl Biochem Microbiol. 2018. V. 54. №. 8. P. 808-815.
5. Хумуд Б.М.Х., Апанасова Н.В., Юдакова О.И. Введение в культуру *in vitro* партеногенетических линий кукурузы // Известия Саратов. ун-та. Серия Химия. Биология. Экология. 2018. Т.18, Вып. 3. С. 320-324.

## **СКОЛЬЖЕНИЕ КАК ИНДИКАТОР СТРЕССОРНЫХ СОСТОЯНИЙ МИКОБАКТЕРИЙ**

Цыганов И.В.<sup>1,2</sup>, Максименко Н.А.<sup>3</sup>, Нестерова Л.Ю.<sup>1,2</sup>, Ткаченко А.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>3</sup> МАОУ «Лицей №2», г. Пермь, Россия

Одной из актуальных проблем современной медицины и микробиологии является борьба с туберкулезом. Важнейшими условиями успешной колонизации и персистенции в макроорганизме является способность патогенных бактерий к распространению и их устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды, в том числе к действию антибиотиков. Скольжение – это один из способов перемещения микроорганизмов по влажным поверхностям, осуществляемый за счет действия экспансивной силы, возникающей при давлении друг на друга делящихся клеток. Из всех видов подвижности, описанных для микроорганизмов [1], скольжение является самым малоизученным способом перемещения, однако, благодаря ему микроорганизмы, не имеющие специализированных механизмов

транслокации, в том числе возбудитель туберкулеза, способны перемещаться по поверхности. Известно, что биогенные полиамины – алифатические поликатионы содержащие amino- и иминогруппы, которые в миллимолярных количествах содержатся в органах и тканях человека, могут оказывать значительное влияние на различные аспекты жизнедеятельности микроорганизмов, в том числе на устойчивость к действию антибактериальных препаратов [2]. Однако вопросы, касающиеся регуляции скольжения и влияния полиаминов на этот процесс, а также на чувствительность микобактерий к антибиотикам остаются неизученными.

Исходя из этого, целью настоящей работы было изучение скольжения микобактерий в присутствии антибиотиков и полиаминов, а также влияние полиаминов на антибиотикочувствительность микобактерий.

Объектом исследования служил штамм *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup> 155, являющийся модельным объектом для изучения физиологии патогенного возбудителя туберкулезной инфекции. Скользящие колонии выращивали в чашках Петри на среде Middlebrook 7H9 с добавлением 0,3% агарозы. Площадь скользящей колонии измеряли после фотографирования с помощью программы Adobe Photoshop CS 2015.5. Число клеток подсчитывали в камере Горяева. Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) определяли в жидкой питательной среде на 96-луночных планшетах, минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) определяли высевами из лунок планшетов на твердую питательную среду.

Известно, что один из способов перемещения бактерий по поверхности – роение, – присущий жгутиковым микроорганизмам, характеризуется уменьшением чувствительности клеток на периферии роящейся колонии к антибактериальным препаратам, что позволяет клеткам успешнее колонизировать субстрат [3]. В ходе исследования нами было установлено, что в отличие от роения, клетки из центра и с периферии скользящей колонии микобактерий не отличались по чувствительности к антибиотикам.

Присутствие в среде культивирования сублетальных концентраций антибиотиков уменьшало размер скользящих колоний. С помощью разработанного нами метода была проведена дифференциальная оценка ряда антибактериальных препаратов на способность ограничивать скольжение за счет бактерицидного действия или ингибирования скольжения, не связанного с гибелью клеток. В частности, тетрациклин и стрептомицин оказывали только бактерицидный или бактериостатический эффект, что выражалось в синхронном уменьшении площади скользящей колонии и числа клеток на единицу площади колонии. В то же время присутствие в среде даже минимальных концентраций рифампицина (0,06 МПК) приводило к значительному снижению площади колонии по сравнению с контрольным значением, число клеток на мм<sup>2</sup> при этом достоверно возрастало. Это свидетельствует о том, что рифампицин в данной концентрации практически не влиял на жизнеспособность клеток, но существенно ингибировал их скольжение. Дальнейшее увеличение концентраций рифампицина вызывало более выраженное ингибирование скольжения по сравнению с изменением количества клеток. Подобным эффектом обладал и антибиотик дитерпеноидной природы DMNP – синтетический аналог соединений, выделенных из морских кораллов. Механизм действия данного препарата пока не установлен, однако показано, что он обладает выраженным антимикобактериальным действием и является перспективным с точки зрения лечения туберкулеза.

Помимо антибиотиков на скольжение могут оказывать влияние и другие факторы, в частности естественные клеточные метаболиты, такие как биогенные полиамины, которые участвуют в адаптации микроорганизмов к различным видам неблагоприятных воздействий. Известно, что микобактерии обладают генами, кодирующими ферменты систем синтеза и транспорта полиаминов. Хотя до сих пор нет сведений об активности полиаминсинтезирующей системы у этих микроорганизмов, но микобактерии могут получать их из организма хозяина, где эти метаболиты присутствуют в значительных количествах. Нами обнаружено, что присутствие в среде физиологических концентраций

этих соединений, которые не оказывали влияния на скорость роста культуры *M. smegmatis*, значительно снижало способность микобактерий к скольжению. Наибольший эффект наблюдался при внесении спермидина (уменьшение на 30%) и спермина (уменьшение на 60%). Внесение полиаминов в среду с антибиотиком усиливало эффект антибактериальных препаратов на скольжение, что выражалось в еще большем уменьшении площади колонии.

В то же время нами было установлено, что присутствие в среде культивирования полиаминов значительно снижало чувствительность микобактерий к антибиотикам, которые традиционно используются для лечения туберкулеза рифампицину, изониазиду, левофлоксацину, этамбутолу и стрептомицину. Наибольшим эффектом обладали полиамины спермидин и спермин. Под действием этих соединений МПК антибиотиков увеличивалась в 1,5-6 раз, в то время как МБК возрастала 1,5-16 раз. Путресцин и кадаверин значительного действия на антибиотикочувствительность не оказывали. Снижение чувствительности к антибиотикам было отмечено только в случае действия рифампицина в присутствии спермина.

Таким образом, присутствие в среде биогенных полиаминов снижало способность микобактерий к скольжению, и усиливало эффект антибактериальных препаратов, ограничивающих скольжение этих микроорганизмов. В то же время физиологические концентрации биогенных полиаминов способствовали снижению антибиотикочувствительности микобактерий.

*Исследование выполнено в рамках комплексной программы УрО РАН АААА-А18-118030790046-9*

#### **Библиографический список**

1. Henrichsen J. Bacterial surface translocation: a survey and a classification // Bacteriological reviews. 1972. Т. 36. № 4. Р. 478.
2. Michael A.J. Polyamine function in archaea and bacteria // Journal of Biological Chemistry. 2018. Т. 293 № 48. Р. 18693—18701.
3. Harshey R. M., Partridge J. D. Shelter in a swarm // Journal of molecular biology. 2015. Т. 427. № 23. Р. 3683—3694.

## **БАКТЕРИИ *ALCANIVORAX BORKUMENSIS* И НЕМАТОДЫ *TURBATRIX ACETI* В МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ «ХОЗЯИН-МИКРОФЛОРА»**

Шайхулова С.Ф.

*ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ИФМиБ, г. Казань, Россия*

**Научный руководитель: д.б.н. Фахруллин Р.Ф.**

Физико-химическая очистка почвы, загрязненной нефтью и нефтепродуктами, состоит из многих этапов и требует больших материальных затрат. Поэтому наиболее перспективными в этом отношении являются биотехнологические методы биологической очистки, которые основаны на активном участии микроорганизмов, способных использовать углеводороды в качестве единственного источника энергии. *Alcanivorax borkumensis* (*A. borkumensis*) составляет важную группу микроорганизмов, деградирующих углеводород и является доминирующим видом, обитающим в нефтезагрязненных средах [1]. В практике используются так называемые консорциумы – кооперации микроорганизмов, разлагающих нефть и нефтепродукты. Консорциумы могут состоять из нескольких видов микроорганизмов-нефтедеструкторов, которые ориентированы на разные фракции нефти, и микроорганизмов, не обладающих способностью к окислению нефти. Но проблема биоремедиации на основе консорциумов состоит в том, что нефти разных месторождений

отличаются друг от друга по фракционному и композиционному составу, а также значительны и отличия районов добычи, переработки и хранения нефти и нефтепродуктов по природно-климатическим и гидротермическим условиям [2].

Для более эффективной биоремедиации среды, контаминированной нефтью и нефтепродуктами, внедряются модельные системы взаимоотношений нефтеразлагающих микроорганизмов с организмом, занимающим более высокий уровень в пищевой цепи [3]. В качестве таких организмов могут выступать нематоды, которые играют важную роль при стимулировании размножения микроорганизмов в загрязненной нефтью почве и регулировании разнообразия микробных сообществ, имеющих в почвенной среде обитания [4]. Вышеописанная модельная система взаимоотношений потенциально может стать привлекательной основой новых биотехнологических стратегий для ускорения процессов восстановления окружающей среды. Таким образом, целью работы являлось изучение влияния бактерий-нефтедеструкторов *A. borkumensis* на физиологические параметры нематод *Turbatrix aceti* (*T. aceti*) в системе взаимоотношений хозяин-микробиота.

Культивирование синхронных по возрасту нематод происходила следующим образом: одни нематоды выращивались в чашке с питательной средой Nematode Growth Medium, используя в качестве пищевого источника бактерии *A. borkumensis*, вторая группа - в среде контаминированной нефтью, третья - в среде с нефтью в сочетании с бактериями-нефтедеструкторами *A. borkumensis* (рисунок 1).



Рис. 1. Оптические микрофотографии нематод, культивированных в трех различных средах: а) в среде №1 с бактериальной пищей *A. borkumensis*, б) в среде №2, контаминированной нефтью, без добавления бактериальной пищи, в) в среде №3, контаминированной нефтью, с добавлением бактериальной пищи *A. borkumensis*

Известно, что нематоды чувствуют внешние химические сигналы и выполняют относительное хемотаксисное поведение через свои простые хемосенсорные нейронные системы [5]. Они используют хемотаксис – направленное движение под воздействием химического раздражителя, для нахождения скоплений бактерий, являющихся для них источником пищи. По результатам хемотаксиса установлено, что *A. borkumensis* не является репеллентом нематоды обладают примерно одинаковым предпочтением как к контрольным бактериям *Escherichia coli* (*E. coli*) (52%), так и к опытным бактериям (48%). Дополнительно был проведен подсчет индекса хемотаксиса (ИХ) нематод. В нашем исследовании ИХ=-0.2 подтверждает одинаковое предпочтение нематод по отношению к *E. coli* и *A. borkumensis*. Следовательно, нематоды не избегают бактерий *A. borkumensis*, и в присутствии только одного этого вида в среде, черви будут активно ими питаться.

При культивировании нематод *T. aceti* в контаминированной нефтью среде без добавления бактериальной пищи ожидалось, что нематоды не достигнут взрослой стадии или же перейдут в альтернативную личиночную стадию, дауэровскую личинку, в состоянии которой нематоды выживают в неблагоприятных условиях среды. Хотя развитие у нематод, культивированных в загрязненной нефтью среде замедлялось на 48 часов, эти нематоды проходили все личиночные стадии и достигали взрослой беременной стадии на шестой день культивирования, значит, нематоды получали все необходимые вещества для развития.

При сочетании нефтяной среды с нефтеразлагающими бактериями *A. borkumensis*, нематоды развиваются в течение 96 часов (как и в стандартной питательной среде, обогащенной бактериальной пищей *A. borkumensis*). Инкубирование бактериями *A. borkumensis* ( $14 \pm 3$  яиц/нематода) не влияют на фертильность нематод по сравнению с *E. coli* ( $15 \pm 4$  яиц/ нематода) (рисунки 2, 3).

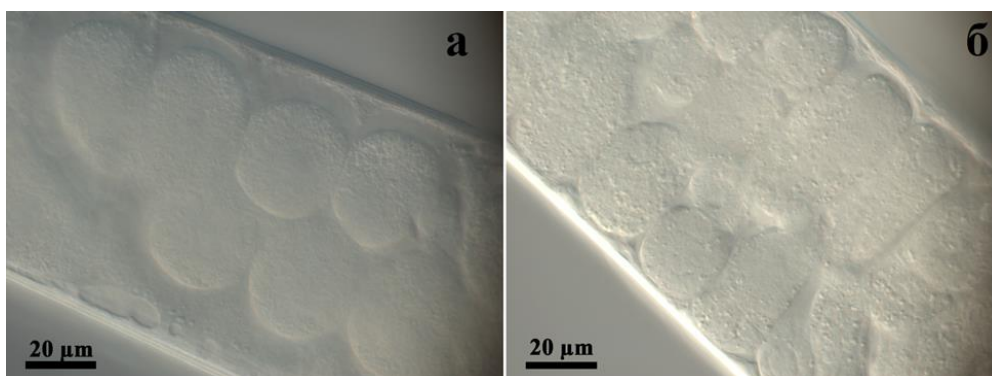


Рис. 2. Яйца в матке нематод *T. aceti*, которые получали в качестве бактериального источника пищи а) *E. coli* или б) *A. borkumensis*

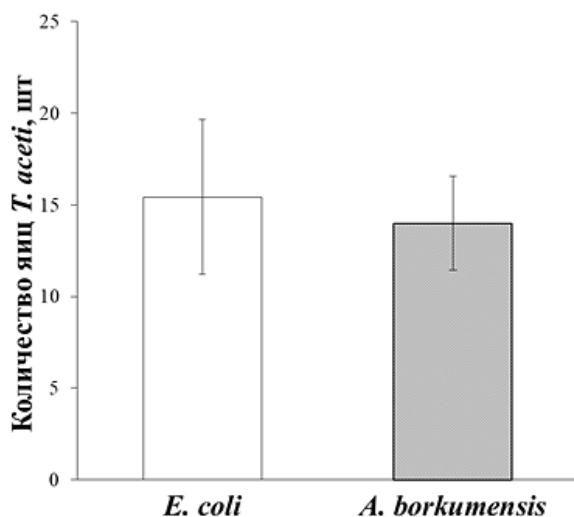


Рис. 3. Распределение яиц во взрослых нематодах *T. aceti*, накормленных в течение 3 дней бактериями *E. coli* или *A. borkumensis*

В организме нематод, выращенных с бактериями *A. borkumensis*, накапливается большее количество непереваренных бактерий, подтверждающее колонизацию просвета кишечника хозяина. В ходе исследования с использованием различных видов микроскопии обнаружено, что распределение нефти происходит по всей длине кишечника и процесс дефекации у нематод не нарушается. Это в свою очередь может быть полезным для эффективного распространения нефтеразлагающих бактерий с помощью нематод к источнику питания. Следовательно, несмотря на небольшую кишечную колонизацию, нормальное состояние дефекации служит важным индикатором выведения нативных бактерий *A. borkumensis* из организма нематод.

Таким образом, изучение совместимости бактерий *A. borkumensis* на роль кишечной микрофлоры нематод показало, что бактерии-нефтедеструкторы *A. borkumensis* эффективно усваиваются нематодами *T. aceti* в качестве единственного источника питания и не оказывают токсического влияния на физиологию нематод. Полученные результаты исследований взаимоотношения нематоды *T. aceti* с нефтеокисляющими бактериями *A.*

*borkumensis* в системе «хозяин-микробиота» являются основой для разработки способов повышения эффективности биологической очистки нефтезагрязненных систем.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-34-00778).*

### **Библиографический список**

1. Golyshin, P., V. A. Martins Dos Santos, Kaiser O., Ferrer M., Sabirova Y., Lünsdorf H., Chernikova T., Golyshina O., Yakimov M., Pühler A., Timmis K. Genome sequence completed of *Alcanivorax borkumensis*, a hydrocarbon-degrading bacterium that plays a global role in oil removal from marine system. *J Biotechnol.* – 2003. – V. 106. – P. 215 – 220.
2. Карасева Э. В., Гирич И. Е., Худокормов А. А., Алешина Н. Ю., Карасев С. Г. Биоремедиация черноземной почвы, загрязненной нефтью. *Биотехнология.* – 2005. – Т.2 – С.67 – 72.
3. Cuny P., Miralles G., Cornet-Barthaux V., Acquaviva M., Stora G., Grossi V., Gilbert F. Influence of bioturbation by the polychaete *Nereis diversicolor* on the structure of bacterial communities in oil contaminated coastal sediments. *MarPollutBull.* – 2007. – V. 54. – P. 452 – 459.
4. Zhou J., Chen D., Huang R., Huang G., Yuan Y., Fan H. Effects of bacterial-feeding nematodes on soil microbial activity and the microbial community in oil-contaminated soil. *J Environ Manage.* – 2019. – V. 234 – P. 424-430.
5. Hu L., Ye J., Tan H., Ge A., Tang L., Feng X., Du W., Liu B. Quantitative analysis of *Caenorhabditis elegans* chemotaxis using a microfluidic device. *Anal. Chim. Acta.* – 2015. – V. 887 – P. 155 – 162.

## **ПСИХРОФИЛЬНЫЕ МЕТИЛОБАКТЕРИИ АНТАРКТИКИ И ПРИПОЛЯРНОГО УРАЛА**

Шаравин Д.Ю., Беляева П.Г.

*«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН,  
г. Пермь, Россия*

Психрофильные микроорганизмы – одни из наиболее распространённых по биомассе и разнообразию, населяют полярные регионы, районы вечной мерзлоты, высокогорья и толщу океанов. Подобные условия оказывают значительное влияние на различные клеточные структуры и метаболизм бактерий, что определённо наделяет психрофилов богатым потенциалом для использования в биотехнологии.

Метилотрофия – это способ существования микроорганизмов позволяющий использовать одноуглеродные соединения в качестве источников углерода и энергии. Внутри метилотрофов выделяют особую группу метанотрофов, способных окислять метан, тогда как большая часть метилобактерий используют метанол и другие метилированные соединения для своей жизнедеятельности. Выброс  $C_1$ -соединений в процессе вулканической активности, выделение метанола растениями, включая водоросли [1] сделало возможным повсеместное распространение метилотрофных микроорганизмов. В свою очередь метилотрофы, многие из которых являются естественными симбионтами растений, способны синтезировать разнообразные биотехнологически ценные продукты жизнедеятельности, такие как фитогормоны, фунгициды, осмо- и криопротекторы, биополимеры и другие соединения [2].

Цель настоящего исследования – изучение биоразнообразия и физиологических особенностей биотехнологически перспективных метилотрофных психрофильных бактерий.

Материалом для исследования служили пробы, отобранные участниками 63-й Российской Антарктической экспедиции (2017–2018), а также образцы мохово-лишайниковой растительности и жидкие пробы, собранные на территории национального парка Югд Ва (Приполярный Урал). Микроскопирование альгофлоры проб из



Приполярного Урала и антарктических образцов показало присутствие следующих родов: из диатомовых *Fragilaria*, *Pinnularia*, *Navicula*, *Eunotia*, *Halamphora*; из зелёных *Cosmarium*, *Ulotrix*, *Chlorella*, *Ceonochloris*, *Draparnaldia*; а также цианобактерий *Nostoc*, *Oscillatoria*, *Rivularia* и *Gloeocapsa*. Следует отметить, что согласно современным исследованиям одноклеточные водоросли и цианобактерии, также как и наземные растения выделяют метанол как продукт своей жизнедеятельности [1]. Наличие в пробах различных представителей фотосинтезирующих микроорганизмов создаёт предпосылки для развития метилотрофных прокариот. На жидкой среде с 1% метанола были изолированы 17 и 11 культур метилотрофных прокариот из Антарктики и Приполярного Урала соответственно. На основании секвенирования гена 16S рРНК имеющиеся изоляты филогенетически наиболее близки родам: *Janthinobacterium*, *Duganella*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Methylophilus*, *Methylobacter*, некоторые из которых в своём составе имеют уже описанных метилотрофных представителей. Используя пары праймеров f1003 × r1561/ 1555r, а также сконструированные для метилотрофных представителей рода *Methylophaga*, классическая метанолдегидрогеназа (МДГ, ключевой фермент пути ассимиляции метанола) обнаружена только у некоторых изолятов. Вероятно, в данном случае, мы имеем дело с альтернативным вариантом МДГ, что находит подтверждение при анализе ближайших родственных полногеномных последовательностей из Генбанка.

Большинство штаммов растут при температурах +4-+5 °С. Культуры ПЗ, П1, Э1 из Приполярного Урала и М346 из антарктических образцов показали рост при +1 °С. Наличие единственной антарктической культуры, растущей при +1 °С можно объяснить относительно мягким для Антарктики климатом в точках отбора проб, расположенных поблизости от побережья. Практически у всех штаммов отсутствует рост при +40 °С. Примечательно, что не только ряд изолятов из прибрежных зон Антарктики способен к росту на среде с 2% NaCl, что объяснимо, но и уральские штаммы П1 и ПЗ, выделенные из вод, питаемых местными снежниками и фирном. Анализ микробного синтеза индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) методом Сальковского (0,05М FeCl<sub>3</sub> в 35% HClO<sub>4</sub> на ФЭКе при 540 нм) с L-триптофаном позволил выявить среди выделенных культур метилотрофов, изоляты способные синтезировать ИУК [3, 4]. Количество выделяемого продуцентами ИУК М92, М317, М324, М605Б, П1, П2, ПЗ, П6, Э1 на пятый день колебалось от 6 до 10 мкг/мл, при максимуме 53 мкг/мл у штамма М582.

Таким образом, нами получено 28 метилотрофных культур, способных к росту в условиях низких температур. Определены штаммы – продуценты ИУК. Планируются дальнейшие эксперименты по исследованию биотехнологического потенциала выделенных изолятов (синтез полиаминокислот, полисахаридов и т.д.).

*Работа выполнена в рамках государственного задания; номер госрегистрации темы: 01201353247.*

*Авторы выражают благодарность с.н.с. А.П. Соломенному за содействие в получении проб, отобранных участниками 63-й Российской Антарктической экспедиции*

#### **Библиографический список**

1. Mincer T.J., Aicher A.C. Methanol production by a broad phylogenetic array of marine phytoplankton // PLoS ONE 2016. V. 11(3): e0150820.
2. Trotsenko Y.A., Torgonskaya M.L. Current trends in methylotrophy – based biotechnology // Advances in Biotechnology & Microbiology. 2018. V. 9 (3): 555763. DOI: 10.19080/AIBM.2018.09.555763.
3. Gordon S.A., Weber R.P. Colorimetric estimation of indole-acetic acid // Plant Physiol. 1951. № 26. P. 192-195.
4. Gogleva A.A., Kaparullina E.N., Doronina N.V., Trotsenko Y.A. *Methylobacillus arboreus* sp. nov., and *Methylobacillus gramineus* sp. nov., novel non-pigmented obligate methylotrophic bacteria associated with plants // Syst. and Appl. Microbiol. 2011. № 34. P. 477-481.

# ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* НА РОСТ И УСТОЙЧИВОСТЬ *TRITICUM AESTIVUM* L. (ПШЕНИЦЫ) И *PHASEOLUS VULGARIS* (ФАСОЛИ) К ДЕФИЦИТУ ВЛАГИ

Шаяхметова А.С.<sup>1,3</sup>, Кулабухова Д.Ю.<sup>1</sup>, Коряков И.С.<sup>3</sup>, Пусенкова Л.И.<sup>1</sup>, Гарипова С.Р.<sup>1,3</sup>, Ласточкина О.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства УФИЦ РАН, г. Уфа, Россия

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа, Россия

<sup>3</sup>ГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», г. Уфа, Россия

Дефицит влаги является одним из наиболее распространенных в мире абиотических стрессовых факторов среды, приводящих к значительному снижению урожайности/продуктивности растений и представляющих серьезную угрозу для сельского хозяйства и продовольственной безопасности [1]. Полезные штаммы бактерий *Bacillus subtilis* могут прямо или опосредованно стимулировать рост и развитие растений, а также индуцировать их устойчивость к биотическим/абиотическим стрессам без нанесения вреда растению-хозяину, окружающей среде и здоровью человека [2, 3, 4, 5]. Механизмы, лежащие в основе физиологического действия *B. subtilis* на растения могут быть многообразными, запутанными и часто специфичными. Кроме того, эффективность одного и того же штамма бактерии может варьировать в зависимости от вида и сорта растения-хозяина, его эколого-географического происхождения, условий произрастания и т.д. [2, 5]. В связи с этим для полного использования их потенциала требуются детальные изучения механизмов их действия, в частности, в системах «эндофитные *B. subtilis* – растение-хозяин – стресс (дефицит влаги)».

В данной работе исследовано влияние эндофитных бактерий *B. subtilis* (штаммы 10-4 и 26D) на ростовые параметры и биохимические показатели устойчивости растений яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Башкирский-26) и фасоли (*Phaseolus vulgaris*, сорт Золотистый) к дефициту влаги, вызванному натрий-хлоридным засолением.

Обнаружено, что предпосевная инокуляция бактериями *B. subtilis* 10-4 и 26D увеличивала в разной степени всхожесть семян яровой пшеницы и фасоли, длину их проростков (корни, побеги) и количество боковых корней, как в нормальных условиях произрастания, так и при воздействии засоления в сравнении с контрольными необработанными растениями. Причем, характер проявления защитного действия штаммов 10-4 и 26D на рост отличался и варьировал в зависимости от уровня стресса и возраста растений. Так, засоление снижало всхожесть семян пшеницы и фасоли до 76% и 52%, соответственно. Предпосевная инокуляция эндофитными штаммами 10-4 и 26D хоть и не предотвращала, но препятствовало снижению уровня негативного воздействия соли на всхожесть семян пшеницы (до 82%) и фасоли (до 88%). Схожая картина наблюдалась и при дальнейшем анализе ростовых параметров, который показал, что значения сырой и сухой массы 7-сут проростков пшеницы в вариантах с предобработкой бактериями в условиях стресса превосходили массу таковых в варианте с необработанными растениями и были сопоставимы с контролем. Что касается линейных размеров фасоли, то длина их побегов и корней при обработке штаммом 10-4 была выше на 78%, количество боковых корней увеличилось на 26% (в сравнении с контролем). В варианте с обработкой штаммом 26D длина побегов и корней статистически не отличалась от контроля, в то время как количество боковых корней, напротив, увеличилось на 46%.

Инокулированные бактериями *B. subtilis* 10-4 и 26D проростки пшеницы и фасоли также характеризовались меньшим уровнем вызываемого засолением увеличения концентрации осмопротектанта пролина, что указывает в пользу предадаптирующего действия эндофитных бактерий на растения в ходе предобработки, что, в свою очередь,

отражается в снижении уровня повреждающего эффекта засоления на их рост. Причем, наибольший уровень пролина был отмечен у растений с низкими ростовыми параметрами. В то же время инокуляция *B. subtilis* 10-4 и 26D снижала уровень стресс-индуцированного накопления малонового диальдегида (МДА) – конечного продукта перекисного окисления липидов, что, в свою очередь, говорит об ослаблении развития окислительного стресса в преобразованных бактериями проростках пшеницы и фасоли. Кроме того, выявлено, что воздействие засоления в течение 24-х часов приводило к увеличению содержания неферментативного антиоксиданта аскорбиновой кислоты (АК) в растениях пшеницы и фасоли, тогда как в этих же условиях, растения, инокулированные штаммами 10-4 и 26D характеризовались меньшим уровнем накопления этого антиоксиданта.

Таким образом, совокупность полученных данных указывает в пользу того, что инокуляция эндофитными бактериями *B. subtilis* 10-4 и 26D способствует увеличению всхожести семян пшеницы и фасоли, длины их проростков в норме и оказывает протекторное действие при воздействии засоления. Данные о снижении под влиянием *B. subtilis* 10-4 и 26D уровней индуцированного засолением накопления пролина, МДА и АК могут свидетельствовать о том, что *B. subtilis* 10-4 и 26D оказывают протекторное действие на рост пшеницы и фасоли в условиях засоления через регуляцию этих защитных механизмов.

*Работа частично поддержана грантами РФФИ (№ 19-016-00035) и Президента РФ (№ МК-643.2019.11).*

#### **Библиографический список**

1. Pereira A. Plant abiotic stress challenges from the changing environment // Front Plant Sci. 2016. V. 7. P. 1123. doi:10.3389/fpls.2016.01123
2. Pandey P.K., Singh M.C., Singh S.S., Kumar M., Pathak M., Shakywar R.C., Pandey A.K. Inside the plants: endophytic bacteria and their functional attributes for plant growth promotion // Int J Curr Microbiol App Sci. 2017. V. 6(2). P. 11-21.
3. Numan M., Bashir S., Khan Y., Mumtaz R., Shinwari Z.K., Khan A.L., Khan A., AL-Harrasi A. Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: A review // Microbiol Res. 2018. V. 209. P. 21-32. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.02.003>
4. Lastochkina O.V., Pusenkova L.I., Yuldashev R.A., Babaev M.S., Garipova S.R., Blagova D.K., Khayrullin R.M., Aliniaiefard S. Effects of *Bacillus subtilis* on some physiological and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. (wheat) under salinity // Plant Physiol Biochem. 2017. V. 121. P. 80 - 88. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.10.020>
5. Lastochkina O., Seifikalhor M., Aliniaiefard S., Baymiev A., Pusenkova L., Garipova S., Kulabuhova D., Maksimov I. *Bacillus* spp.: efficient biotic strategy to control postharvest diseases of fruits and vegetables // Plants. 2019. V. 8(4). P. 97-121. <https://doi.org/10.3390/plants8040097>

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ КОРОДРЕВЕСНЫХ ОТХОДОВ**

Шилова А.В.<sup>1</sup>, Халитова А.И.<sup>1,2</sup>, Максимов А.Ю.<sup>1,2</sup>, Щетко В.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>3</sup> Институт микробиологии НАН Республики Беларусь, г. Минск

Кордревесные отходы (КДО), накопленные за десятилетия работы отечественной целлюлозно-бумажной и деревообрабатывающей промышленности являются серьезной

экологической проблемой России. Во многих регионах они складываются в виде масштабных короотвалов, занимающих большие территории, представляющих собой существенную угрозу для окружающей среды и человека опасностью возгорания, закислением почв, загрязнением водоемов экстрактивными органическими веществами и продуктами распада. Крупнейшими такими объектами в Пермском крае являются короотвалы Краснокамского и Пермского ЦБК. Материал этих двух короотвалов в незначительном количестве используются как грунтоподобная масса в сельском хозяйстве и как топливо. Исследования и предположения по использованию КДО публикуются также многие десятилетия, однако эффективные и реализуемые технологии отсутствуют.

Попытки использовать КДО (даже из зон с значительной степенью деградации) напрямую, без ферментации, оптимизации химического состава и консистенции, иной обработки, в качестве заменителя грунта или органической добавки на поля, показали негативный результат в виде закисления почв, подавления роста растений, распространения фитопатогенов (микромикробов), снижения урожайности.

Однако не вызывает сомнения, что КДО - это ценное органическое сырьё и разные его фракции после специальной переработки могут быть использованы в качестве качественного биоудобрения или топлива. Эффективными для этого являются биотехнологические методы переработки на основе биodeградации растительных полимеров [1-3].

Объекты данного исследования - образцы КДО короотвала г. Краснокамск, их микроценозы и микроорганизмы – деструкторы.

Короотвал расположен на узком мысе между р. Кама и р. Малая Ласва. Периметр короотвала – 2 км, площадь – 202 кв. км, существует более 70 лет, расположен в черте города и периодически возгорается.

Для определения химического состава, оценки физико-химических условий, метагеномного и микробиологического анализа были пробурены 6 скважин в разных точках короотвала глубиной до 19 м, отобраны образцы КДО. Получены важные результаты по минеральному составу, влажности, кислотности, условиям залегания слоев КДО [4]. В частности, материал, поднятый с глубин 10-18 м, обводнен и значительно менее гумифицирован, чем верхние слои, сохранял природную структуру, прочность и светлый желтоватый цвет древесины, что свидетельствует о глубоком торможении процессов биодеструкции в условиях обводнения и анаэробноз. Это опровергает ранние предположения, что материал короотвала гумифицируется в естественных условиях за 50-70 лет [4].

Проведен метагеномный анализ КДО аэрируемой зоны короотвала с применением секвенирования нового поколения (NGS). Установлено, что в поверхностном слое преобладают представители рода *Acinetobacter*, в то время как анаэробных условиях преобладал род *Lactovum*. Также обращает на себя внимание высокое содержание представителей рода *Cellulomonas* и других целлюлолитических микроорганизмов.

Показано, что в поверхностном слое преобладали представители филы *Proteobacteria*, также в значительном количестве содержались представители *Firmicutes* и *Actinobacteria*. В слое глубиной 1 м преобладали *Firmicutes*. При этом *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Bacteroidates* присутствовали в сопоставимых количествах.

Родовой состав сообществ также в значительной степени различался в соответствии с распределением фил. В поверхностном слое преобладали представители рода *Acinetobacter*, в то время как анаэробных условиях преобладал род *Lactovum*. Также обращает на себя внимание высокое содержание представителей рода *Cellulomonas* и других потенциальных целлюлолитических микроорганизмов.

Для выделения культур бактерий, обладающих способностью к биодеструкции, использовали минеральную среду N [5]. В качестве источника азота использовали 10 мМ хлористый аммоний. В качестве субстрата добавляли 1% целлюлозы или карбоксиметилцеллюлозы.

В поверхностных образцах КДО обнаружено высокое количество бактерий, обладающих целлюлолитической активностью ( $7,8 \times 10^8$  КОЕ/г –  $6,3 \times 10^9$  КОЕ/г). В результате проведенного отбора изолировано 18 высокоактивных культур бактерий родов *Streptomyces* и *Cellulomonas*, эффективно гидролизующих целлюлозу (рис.1).

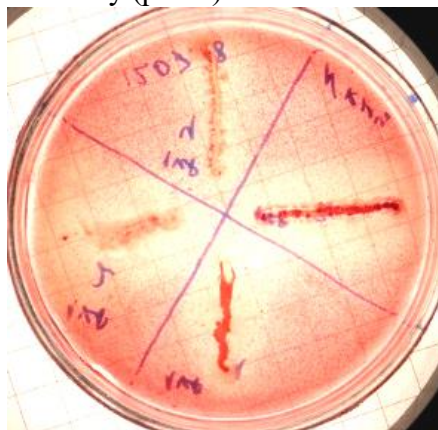


Рис. 1. Культуры с высокой целлюлолитической активностью

В модельных долговременных экспериментах по биодеструкции материала КДО выделенными бактериями показано, что при засевной дозе  $10^9$  и оптимизации элементного состава среды и pH, потеря массы КДО по сухому весу в течение 90 суток составляет 8-21%. Таким образом, целлюлолитические бактерии в условиях оптимизированной по составу среды являются эффективным инструментом для переработки КДО.

*Работа выполнена в рамках проекта МИГ № С-26/796, финансируемого Министерством образования и науки Пермского края.*

#### Библиографический список

1. Bayer E. A., Lamed R., Himmel M. E. The potential of cellulases and cellulosomes for cellulosic waste management // *Current opinion in Biotechnology*. – 2007. – № 18 (3). – С. 237-245
2. Марьиновская, Ю. В. Микробиологическая деструкция целлюлозосодержащих отходов / Ю. В. Марьиновская, Н. Н. Севастьянова // *Микробиология*. – 2006. - № 3. – С. 75 – 81.
3. Hussain A.A., Abdel-Salam M.S., Abo-Ghalia H.H., Hegazy W.K., Hafez S.S. Optimization and molecular identification of novel cellulose degrading bacteria isolated from Egyptian environment // *J. Genet. Engineer. Biotechnol.* – 2017. – V.15. – P.77–85.
4. Максимов А.Ю., Максимова Ю.Г., Шилова А.В., Колесова О.В., Симонетти Дж. Исследование свойств и микробиологического состава кородревесных отходов короотвала г. Краснокамск // *Вестник Пермского национального исследовательского политехнического университета. Химическая технология и биотехнология*. – 2018. – № 4. – С. 98-112.
5. Максимов А.Ю. Влияние нитрилов и амидов на рост и нитрилгидратазную активность штамма *Rhodococcus* sp. gt1 // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2003. – № 1. – С. 63–68.

# РАЗРАБОТКА МЕТОДА САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКОГО МУТАГЕНЕЗА АКТИНОБАКТЕРИЙ РОДА *RHODOCOCCLUS*

Ширяева Е.Н.<sup>1</sup>, Криворучко А.В.<sup>1,2</sup>, Фишер С.<sup>3</sup>, Ившина И.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>3</sup>Университет Эври, Эври, Франция

Актинобактерии рода *Rhodococcus* обладают уникальным набором ферментов, которые позволяют им окислять широкий спектр органических соединений (жидкие и газообразные алканы, стеролы, фенолы, фталаты, органические сульфиды и т.д.). В настоящее время реально использование родококков для индикации нефтегазовых месторождений, биодegradации ксенобиотиков, синтеза биосурфактантов, получения фармацевтических препаратов [1]. В связи с тем, что это относительно молодой объект современной биотехнологии и среди родококков практически отсутствуют патогенные формы, исследованию особенностей их взаимодействия с органическими загрязнителями, а так же детализации механизмов запуска и развития процессов их биодеструкции уделяется недостаточное внимание.

Для родококков характерны особенности, которые затрудняют их молекулярно-генетические исследования: высокое (более 70 %) содержание пар гуанин-цитозин в геноме, жесткая липофильная клеточная стенка, формирование спонтанной антибиотикорезистентности, многие окислительные ферменты с трудом поддаются гетерологичной экспрессии и анализу *in vitro* [2].

Цель данной работы – модификация метода сайт-специфического мутагенеза родококков, основанный на получении делеций целевых нуклеотидных последовательностей с помощью сконструированных рекомбинантных ДНК-кассет и не предполагающий использование векторов и конъюгативного переноса мутагенных факторов.

На основе биоресурсов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, [www.iegmcoll.ru](http://www.iegmcoll.ru), номер во Всемирной федерации коллекции культур 768, реестровый номер Уникальной научной установки 73559) разработана и адаптирована методика получения мутантов родококков по целевым генам. Получены оригинальные рекомбинантные ДНК-кассеты, которые напрямую вводят в бактериальную клетку. Разработан оригинальный протокол, обеспечивающий оптимальные условия амплификации фланкирующих участков гена *choG*, двух генов *alkB*, гена *nicF* и гена RHRU231v1\_960068; их сплайсинга с рекомбинантной кассетой; электропорации компетентных бактериальных клеток в присутствии полученных рекомбинантных кассет. Созданы мутантные штаммы *R. ruber* ИЭГМ 231 (номер в GenBank CCSD01000000), ИЭГМ 381 и DSM 45280, измененные по генам *choG* и *alkB*. В условиях ростовых экспериментов показано, что мутанты по гену *choG* теряли способность к окислению холестерина, в 6 раз менее эффективно окисляли холестеранол и не отличались по способности окислять  $\beta$ -ситостерол по сравнению с клетками “дикого типа”. Это свидетельствует об участии холестеролоксидазы в процессе трансформации холестерина и холестеранола и отсутствии влияния этого фермента на трансформацию  $\beta$ -ситостерола. Мутант с измененным геном *alkB* не отличался от “дикого типа” по способности окислять *n*-гексадекан.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 18-34-00109/18 мол\_а, 18-29-05-006 и в рамках Госзадания № 01201353247, 6.3330.2017/4.6.

### Библиографический список

1. Alvarez, H.M. Biology of *Rhodococcus* (second edition) / H.M. Alvarez. – Springer Nature Switzerland AG. – 2019. – 386 p.
2. Fernandez de las Heras, L. Cholesterol to cholestenon oxidation by ChoG, the main extracellular cholesterol oxidase of *Rhodococcus ruber* strain Chol-4 / L. Fernandez de las Heras, J. Perera, J.M. Navarro Llorens // J. Steroid Biochemi. Mol. Biol. – 2013. – P. 33– 44.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ГАЛОТОЛЕРАНТНОГО ШТАММА *ARTHROBACTER SP. SF27*, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ РАЙОНА СОЛЕРАЗБОТОК (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

Юдин Д.С.<sup>1</sup>, Ястребова О.В.<sup>2</sup>, Плотникова Е.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

Бактерии рода *Arthrobacter* (семейство *Micrococcaceae*) являются типичными обитателями почвенных экосистем, присутствуют как в загрязненных, так и не подверженных загрязнению почвах, где представляют значимую часть культивируемых микроорганизмов. Представители рода *Arthrobacter* способны метаболизировать широкий спектр как природных, так и синтетических ароматических и алифатических соединений, в том числе никотин, фенантрен, фенолы, фталаты [1, 2]. Цель работы – функционально-генетическая характеристика штамма *Arthrobacter sp. SF27*, выделенного из района солеразработок (Пермский край).

Объектом исследования являлся штамм рода *Arthrobacter* (штамм SF27), изолированный из образца почвы, отобранного в 500 м от солеотвала, находящегося на территории калийного комбината БКПРУ-1 (г. Березники, Пермский край). Субстратную специфичность штамма SF27 исследовали путем культивирования на агаризованной и в жидкой минеральной среде K1 при 28°C с различными ароматическими углеводородами (в том числе, нафталин, фенантрен, *орто*-фталат, бензоат) в качестве единственного источника углерода и энергии. Ростовые характеристики штаммов-деструкторов изучали в периодической культуре. Оптическую плотность (ОП) культуральной жидкости измеряли на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini (“Shimadzu”, Япония) при 600 нм. Плазмидную ДНК выделяли методом щелочного лизиса, как описано [3]. Для обнаружения плазмидной ДНК применяли электрофорез в горизонтальном агарозном геле (1%) при напряжении 70-90 V. Агарозные гели окрашивали раствором бромистого этидия (1-2 мкг/мл) в течение 15-20 минут и анализировали в системе Gel-Doc XR. Размер плазмидной ДНК оценивали, сравнивая ее электрофоретическую подвижность с подвижностью плазмидных ДНК (плазмида NAN7 размером 83 т.п.н., штамм *Pseudomonas putida* PpG7; плазмида NPL-1 размером 100 т.п.н., штамм *P. putida* BS202). Элиминацию плазмид проводили с использованием митомицина С, согласно стандартной методике [4]. Селекцию элиминантов осуществляли на минеральной среде K1 с нафталином, фенантреном, *орто*-фталатом и бензоатом в качестве субстрата. Клоны отбирали по отсутствию способности к росту на перечисленных выше субстратах. Отобранные колонии проверяли на наличие в них плазмид, используя щелочной метод и электрофорез (см. выше).

Штамм SF27 был идентифицирован как представитель рода *Arthrobacter*. Сравнительный анализ генов 16S рРНК показал, что штамм SF27 наиболее близок типовому штамму *Arthrobacter crystallopoietes* (сходство по генам 16S рРНК - 99,7%), входящему в группу *A. globiformis*.

Выявлена способность штамма SF27 расти на фенантрене, *орто*-фталате, нафталине, бензойной кислоте, салицилате и гентизате в качестве единственного источника углерода и энергии. В Таблице 1 представлены максимальные показатели оптической плотности штамма SF27 при выращивании его на фенантрене, *орто*-фталате, нафталине и бензойной кислоте.

Таблица 1.

Рост штамма *Arthrobacter* SF27 на различных субстратах

Субстрат	среда LB	<i>орто</i> -Фталевая кислота	Фенан-трин	Нафта-лин	БК*	ПКК**
Максимальная ОП <sub>600</sub>	2,5	1,2	1,4	1,2	1,3	0,9

Примечание: \* - бензойная кислота; \*\* - протокатеховая кислота.

С использованием щелочного метода в клетках штамма SF27 была выявлена плаزمиды размером около 100 т.п.н. (Рисунок 1). В результате десяти последовательных пересевов и культивирования в богатой среде LB (Luria-Bertani) бесплазмидные варианты штамма SF27 не были выявлены. Далее были проведены эксперименты с обработкой клеток штамма SF27 митомицином С в концентрации 2.5 мкг/мл. Был получен клон штамма SF27 (обозначенный как E17), утративший способность к росту на средах с нафталином, фенантроном, *орто*-фталатом, используемых в качестве субстрата. В клетках исследуемого клона E17 плазмиды не была обнаружена.

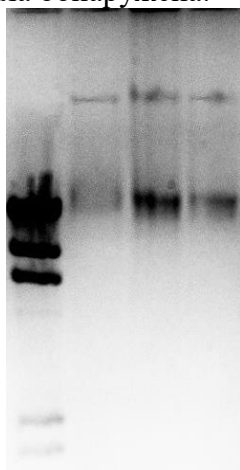


Рисунок 1. Электрофореграмма плазмидных ДНК:

- 1 – маркер молекулярных масс  $\lambda$ -HindIII;
- 2 – штамм BS202 (плазмиды NPL-1, 100 kb);
- 3 – штамм SF27, выращенный на фенантрене;
- 4 – штамм SF27, выращенный на *орто*-фталате.

1 2 3 4

Таким образом, на настоящем этапе исследований можно предположить, что генетические структуры, контролирующие разложение ряда ароматических соединений (нафталина, фенантрена, *орто*-фталата) находятся в плазмиде.

#### Библиографический список

1. Плотникова Е. Г., Ястребова О. В., Ананьина Л. Н., Дорофеева Л. В., Лысанская В. Я., Демаков В. А. Галотолерантные бактерии рода *Arthrobacter* – деструкторы полициклических ароматических углеводов // Экология. – 2011. - №6. - С. 459–466.
2. Mihășan M., Bioinformatics-based molecular classification of arthrobacter plasmids // Cell. Mol. Biol. Lett. – 2015. DOI: 10.1515/cmb-2015-0036
3. Marko M.A., Chipperfield R., Birnboim H.C. A procedure for the large-scale isolation of highly purified plasmid DNA using alkaline extraction and binding to glass powder // Analit. Biochem. 1982. - V.121. - №2. - P.382–387.
4. Rheinwald J., Chakrabarty A.M., Gunsalus I.C. A transmissible plasmids controlling camphor oxidation in *Pseudomonas putida* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 1973. - V.70. - P. 885-889.



## СЕКЦИЯ II

### БОТАНИКА, ГЕНЕТИКА И ЭКОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ ГАЛОТОЛЕРАНТНЫЙ ШТАММ *MARTELELLA* SP. PSH17-52 – АКТИВНЫЙ ДЕСТРУКТОР ФТАЛАТОВ

Багаутдинова Н.А.<sup>1</sup>, Ястребова О.В.<sup>2</sup>, Плотникова Е.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН,  
г. Пермь, Россия

Ведущей отраслью химической промышленности в Пермском крае является производство минеральных удобрений. В регионе расположено одно из крупнейших в мире месторождений калийно-магниевых солей (Верхнекамское месторождение, ВКМКС). Добыча и переработка калийных руд сопровождается образованием значительных объемов глинисто-солевых шламов и избыточных рассолов, сбрасываемых в шламохранилища. Как показывают результаты эколого-геохимических исследований, они содержат широкий спектр поллютантов и служат мощными источниками загрязнения природных геосистем [1]. В отходах соледобывающих предприятий присутствуют такие устойчивые к разложению органические соединения, как моно(поли)ароматические углеводороды, галогенсодержащие органические соединения и фталаты. Последние, помимо устойчивости к внешним воздействиям, обладают канцерогенными свойствами, а также высокой летучестью и растворимостью в воде, что определяет значительные масштабы их эмиссии в сопредельные среды, в частности, в гидросферу [1].

Перспективным методом разложения данных экополлютантов в условиях высокого засоления среды является микробная деструкция. Среди бактерий-деструкторов фталатов обнаружены представители различных родов: *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Sphingomonas*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus* [2–4]. Однако к настоящему времени не представлено данных о способности бактерий рода *Martellella* к деструкции фталатов, а также недостаточно изучена бактериальная деструкция данных соединений в условиях повышенного засоления среды.

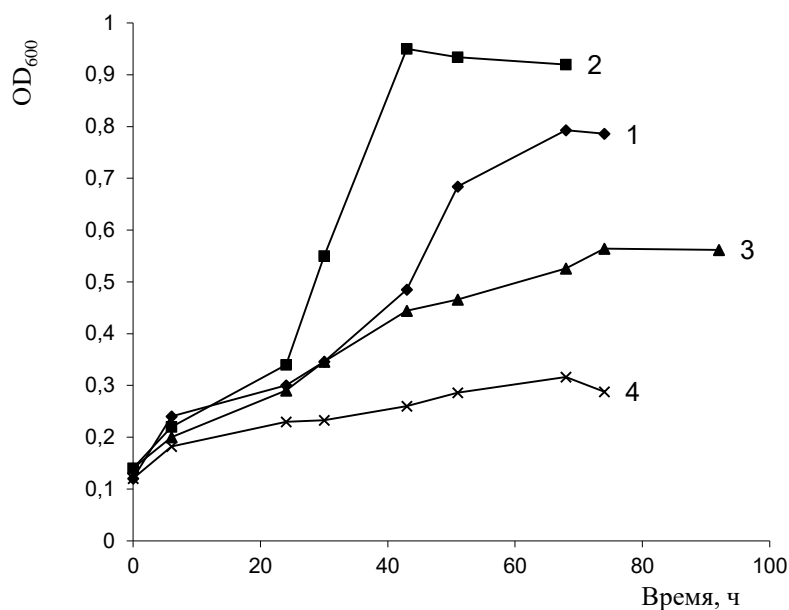
Цель работы – характеристика штамма-деструктора *орто*-фталевой кислоты (*орто*-ФК) *Martellella* sp. PSH17-52, выделенного из донных отложений промышленных стоков промканала (г. Березники, Пермский край).

Из рабочей коллекции микроорганизмов Лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии «ИЭГМ УрО РАН» отобран для исследования грамотрицательный штамм-деструктор *орто*-ФК PSH17-52, идентифицированный ранее как представитель рода *Martellella*. Наибольший уровень гомологии (96,72%) данный штамм проявляет с типовым штаммом вида *Martellella radices* VM5-7<sup>T</sup>.

Показано, что штамм *Martellella* sp. PSH17-52 растет как в среде без добавления соли, так и в присутствии до 10% NaCl и относится к галотолерантным микроорганизмам [5].

Установлено, что штамм PSH17-52 осуществляет деструкцию *орто*-ФК, дибутилфталата (ДБФ), диэтилфталата (ДЭФ), а также протокатеховой кислоты (ПКК) – основного метаболита разложения *орто*-ФК. Можно предположить, что деструкция сложных эфиров фталевой кислоты данным штаммом осуществляется с последовательным образованием *орто*-ФК, 4,5-дигидроксифталевой кислоты и ПКК, в качестве основных метаболитов, как показано в литературе для ряда грамотрицательных штаммов [2, 4].

Исследовано влияние различных концентраций соли на рост штамма *Martellella* sp. PSH17-52 в минеральной среде с *орто*-ФК (1 г/л) в качестве субстрата (рисунок).



Рост штамма PSH17-52 в минеральной среде с *орто*-ФК. Концентрация NaCl, г/л: 1 – без NaCl; 2 – 30; 3 – 50; 4 – 70.

Рост штамма наблюдался в присутствии до 70 г/л NaCl в среде. Наиболее высокие ростовые показатели зафиксированы при культивировании штамма в присутствии 3% NaCl. Высокие параметры роста штамма наблюдались также в среде без добавления соли. Повышение концентрации NaCl в среде до 5% приводило к увеличению лаг-фазы роста и к снижению ростовых показателей штамма (незначительный прирост биомассы, снижение скорости роста).

Методом щелочного лизиса в клетках исследуемого штамма, выращенных на *орто*-ФК в качестве субстрата, обнаружена плазида молекулярной массой ~100 т.п.н. Известно, что гены деструкции фталатов у грамотрицательных бактерий часто имеют плазмидную локализацию [4], однако ранее не было представлено данных о наличии плазмид деструкции в клетках бактерий рода *Martelella*.

Таким образом, впервые у представителей рода *Martelella* обнаружена способность разлагать фталаты (*орто*-ФК) в условиях повышенного засоления среды (до 70 г/л NaCl). Данный штамм является перспективными для разработки новых методов биоремедиации засоленных почв, загрязненных фталатами.

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер государственной регистрации темы: 01201353247.

#### Библиографический список

1. Бачурин Б.А., Одинцова Т.А. Стойкие органические загрязнители в отходах горного производства // Современные экологические проблемы Севера. Апатиты: Изд-во Кольского НЦ РАН, 2006. Ч. 2. С. 7-9.
2. Liang D.W., Zhang T., Fang H. Phthalates biodegradation in the environment // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2008. V. 80. P. 183–198.
3. Chang H.K., Zylstra G.J. Novel organization of the genes for phthalate degradation from *Burkholderia cepacia* DBO1 // J. Bacteriol. 1998. V. 180. P. 6529–6537.
4. Biodegradation of di-n-butyl phthalate by *Rhodococcus* sp. JDC-11 and molecular detection of 3,4-phthalate dioxygenase gene / D.-C. Jin, R.-X. Liang, Q.-Y. Dai, R.-Y. Zhang, X.-L. Wu, W.-L. Chao // J. Microbiol. Biotechnol. 2010. V. 20, № 10. P. 1440–1445.
5. Кашнер Д. Жизнь микробов в экстремальных условиях. М.: Мир, 1981. 365 с.

# ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ *ALLIUM SATIVUM* L. В ПЕРМСКОМ КРАЕ

Бересневич С.И.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н. Новоселова Л.В.**

Генетические ресурсы культурных растений – генетический материал, представляющий фактическую или потенциальную ценность, важный компонент, определяющий продовольственную и экологическую безопасность любого государства. В настоящее время в связи с ростом генетической эрозии и исчезновением сортов, видов, а также более крупных таксонов растений, особенно актуальным стало сохранение генетических ресурсов [1]. Род *Allium* L. – один из крупнейших родов однодольных растений. Чеснок (*Allium sativum* L.) по масштабам использования занимает одну из лидирующих позиций. Доля промышленного производства чеснока в России составляет не более 1%, практически весь чеснок, в том числе на территории Пермского края, выращивается на садовых участках и в приусадебных хозяйствах.

Цель данной работы – сбор и изучение образцов *A. sativum* L. в Пермском крае. Была создана коллекция, включающая 37 образцов (33 озимой и 4 яровой формы) из 17 административных районов Пермского края, относящихся к 5 ботанико-географическим районам. При выполнении измерений следовали «Методическим указаниям по селекции луковых культур» [2].

Масса сложной луковицы озимых образцов варьирует от  $71,1 \pm 2,0$  до  $14,9 \pm 1,0$  г, яровых образцов от  $30,4 \pm 1,9$  до  $16,4 \pm 1,2$  г. Образец 5 (Кунгурский район), обладающий наибольшей массой луковицы, имеет относительно выравненные зубки массой  $11,4 \pm 0,8$  г ( $CV=22,8\%$ ). Средняя масса луковицы озимых образцов *A. sativum* составила  $40,6 \pm 2,6$  г, яровых –  $20,4 \pm 3,9$  г.

21 образец был передан в ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства (пос. ВНИИСОК, Московская обл.) и экспериментально высажен на участке лаборатории луковых культур 25 мая 2018 г., т. к. большую ценность для селекции представляют образцы, полученные из различных географических зон [3].

Во время вегетации озимых форм проводились 2 учета 4-х биометрических показателей через 10 дней: высота растения, количество листьев, длина и ширина листовой пластинки. На основе полученных данных определена площадь ассимиляционной поверхности листьев по формуле Н.Ф. Коняева [2]. Наибольший прирост  $7,3 \pm 3,0$  см за декаду наблюдался у образца 6 (Пермский район), наибольший прирост листьев за декаду – у образца 5 (на 2 листа), в то время как у образцов 2 (Кунгурский район) и 10 (г. Соликамск) увеличение числа листьев не было отмечено. Максимальной длиной и шириной листьев обладал образец 16, максимальную площадь ассимиляционной поверхности имел образец 6 (Пермский район). Характеристика наиболее перспективных образцов озимых форм *A. sativum* представлена в таблице 1.

В составе пермской коллекции оказались лишь 4 яровых образца, характеристика которых представлена в таблице 2. Несмотря на более длительные сроки хранения и короткий период вегетации, яровые формы в настоящее время в Пермском крае менее востребованы. Яровой чеснок не образует стрелки и как следствие не формируются воздушные луковички (бульбочки), следовательно, размножение ярового чеснока проводят только вегетативно с помощью зубков.

Таблица 1.

Сравнительная характеристика образцов озимой формы *A. sativum* из пермской коллекции

Показатели		Номер образца		2	5	6	16	
Сложная луковица	Диаметр	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , см		5,50±0,07	5,75±0,07	6,11±0,06	6,10±0,07	
		CV, %		3,83	3,59	2,83	3,22	
	Высота	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , см		3,99±0,08	4,33±0,10	4,76±0,07	4,57±0,06	
		CV, %		6,18	6,72	4,72	3,87	
	Масса	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , г		63,1±2,3	71,1±2,0	45,9±1,8	47,1±2,2	
		CV, %		10,8	8,4	11,8	13,7	
Зубки	Масса	Сред- няя	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , г		9,4±0,9	11,4±0,8	9,5±0,7	7,8±0,4
			CV, %		31,5	22,8	23,0	14,4
	Мах	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , см		15,2±0,1	16,6±0,1	13,9±0,1	9,6±0,1	
		Число зубков		6–9	6–8	5–7	8–9	
Высота растения		$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , см		47,0±1,3	52,6±1,5	49,0±1,1	46,2±1,6	
		CV, %		8,3	8,6	6,7	10,4	
Число листьев		$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , см		8,1±0,3	8,0±0,2	9,1±0,1	7,6±0,3	
		CV, %		11,1	7,5	3,2	11,8	
Длина листовой пластинки	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , см		28,3±4,1	28,9±4,3	28,8±3,2	30,1±2,5		
	CV, %		43,5	44,6	22,9	24,9		
Ширина листовой пластинки	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , см		1,7±0,1	1,7±0,2	1,7±0,2	1,9±0,1		
	CV, %		17,6	35,3	35,3	15,8		
Площадь ассимиляцион- ной поверхности		$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , см <sup>2</sup>		261,1 ±31,4	263,3 ±32,5	298,5 ±40,1	291,2 ±38,6	

Примечание: Образцы: 2, 5 – Кунгурский район, 6, 16 – Пермский район;  $\bar{X}$  – среднее арифметическое показателя;  $S\bar{x}$  – стандартная ошибка средней арифметической; CV – коэффициент вариации.

Таблица 2.

Сравнительная характеристика образцов яровых форм *A. sativum* из пермской коллекции

Показатели		Номер образца		9	14	15	18	
Сложная луковица	Диаметр	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , см		4,11±0,06	4,70±0,08	5,59±0,08	5,51±0,06	
		CV, %		4,61	5,38	4,47	3,13	
	Высота	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , см		3,19±0,06	3,67±0,07	4,40±0,05	3,78±0,07	
		CV, %		5,18	5,86	3,75	5,37	
	Масса	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , г		16,4±1,2	15,6±1,3	30,4±1,9	19,2±1,3	
		CV, %		21,8	25,2	19,0	20,1	
Зубки	Масса	Сред- няя	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , г		1,3±0,2	0,9±0,2	5,3±0,2	1,0±0,2
			CV, %		50,0	53,6	12,8	55,9
	Мах	$\bar{X} \pm S\bar{x}$ , см		2,6±0,1	1,9±0,1	6,4±0,1	2,1±0,1	
		Число зубков		16–18	16–18	8–10	18–20	

Примечание: Образцы: 9 – Чердынский район, 14 – Карагайский район; 15 – Уинский район, 18 – Пермский район;  $\bar{X}$  – среднее арифметическое показателя;  $S\bar{x}$  – стандартная ошибка средней арифметической; CV – коэффициент вариации.

Таким образом, выделены наиболее перспективные образцы пермской коллекции *A. sativum*, которые будут использованы в селекции.

### Библиографический список

1. Дзюбенко Н.И. Генетические ресурсы культурных растений – основа продовольственной и экологической безопасности России // Вестник Российской академии наук, М., 2015. Т.85, №1. С 3–8.
2. Методические указания по селекции луковых культур / И.И. Ершов, М.В. Алексеева, В.А. Комиссаров и др. М., 1997. 118 с.
3. Селекция чеснока озимого на качество продукции / Т.М. Середин, А.Ф. Агафонов, Л.И Герасимова и др. Москва; Омск: Литера, 2018. 116 с.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ *ADONIS VERNALIS* L. СЕВЕРНОГО КАЗАХСТАНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЖМИКРОСАТЕЛЛИТНОГО АНАЛИЗА ДНК

Берсенева Ю.Н.<sup>1</sup>, Бельтюкова Н.Н.<sup>1</sup>, Ульянов В.А.<sup>2</sup>, Бейшова И.С.<sup>2</sup>,  
Султангазина Г.Ж.<sup>2</sup>, Бейшов Р.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>КГУ им. А.Байтурсынова, г. Костанай, Казахстан

На территории Северного Казахстана произрастает *Adonis vernalis* L., внесенный в утвержденный список редких видов растений Республики Казахстан [1]. Данный вид имеет значительный практический интерес, поскольку содержит в своем составе сердечные гликозиды, входящие в состав препаратов для лечения сердечно-сосудистой, нервной системы, болезней почек и мочевыводящих путей [2].

Для изучения генофондов было выбрано 5 ценопопуляций *Adonis vernalis* L., расположенных на территории Северного Казахстана в Северо-Казахстанской (Av1, Av2) и в Акмолинской областях (Av3, Av4, Av5). Целью нашей работы было изучение генетического разнообразия и оценка состояния генофондов ценопопуляций *A. vernalis*, основанная на полилокусном маркировании с использованием межмикросателлитного метода выявления полиморфизма ДНК.

Для выделения ДНК из гербарного материала *A. vernalis* использовалась модифицированная методика [3]. Для изучения генетического разнообразия вида использовали молекулярные маркеры, представляющие собой полиморфные последовательности ДНК, которые впоследствии обнаруживались с помощью методов, основанных на полимеразной цепной реакции. Из 15 ISSR-праймеров (Inter Simple Sequence Repeats) выявлены 5 наиболее эффективных (M1 ((AC)<sub>8</sub>CG), M3 ((AGC)<sub>6</sub>G), M27 ((TG)<sub>8</sub>GC), X11 ((GA)<sub>8</sub>C), ISSR9 ((ACG)<sub>7</sub>G)), дающие воспроизводимые результаты [3]. Такие праймеры позволяют амплифицировать фрагменты ДНК, которые находятся между двумя достаточно близко расположенными микросателлитными последовательностями.

Молекулярно-генетические исследования ценопопуляций *A. vernalis* проведены в соответствии с рекомендациями С.В. Боронниковой [4].

Анализ фрагментов ДНК 5 изученных ценопопуляций *A. vernalis* выявил 78 амплифицированных фрагментов ДНК, из которых 65 были полиморфными ( $P_{95} = 0,833$ ). Число амплифицированных фрагментов ДНК в суммарной выборке растений варьировало в зависимости от праймера от 12 (ISSR9) до 19 (M1). В среднем при ISSR-анализе один праймер инициировал синтез 15,6 фрагментов ДНК. Число полиморфных фрагментов ДНК в суммарной выборке растений варьировало от 10 до 18, а их размеры – от 1700 до 1350 пн. Доля полиморфных локусов в общей выборке в зависимости от ISSR-праймера колебался от 0,667 (X11) до 0,895 (M1) и в среднем составила 0,833. Число полиморфных фрагментов

ДНК варьировало от 28 у Av4 до 45 у Av1. Абсолютное число аллелей на локус ( $n_a$ ) на общую популяцию составило 1,897. Эффективное число аллелей на локус ( $n_e$ ) на общую выборку равно 1,489. В изученных ценопопуляциях *A. vernalis* обнаружено 5 редких фрагментов ДНК: 2 в Av4 и по одному в Av2, Av3 и Av5. У всех изученных ценопопуляций *A. vernalis* показатель  $h$  имеет значения меньше 0,3. Анализ внутривидового разнообразия *A. vernalis* с применением показателя  $\mu$  выявил, что из 5 изученных ценопопуляций большей равномерностью распределения частот аллелей характеризуется ценопопуляция Av4 ( $\mu = 1,475$ ), а наименьшей ( $\mu = 1,628$ ) – ценопопуляция Av1.

Анализ генетической структуры ценопопуляций *A. vernalis* показал, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в общей выборке ( $H_T$ ) *A. vernalis* составила 0,291, а ожидаемая доля гетерозиготных генотипов ( $H_S$ ) в ценопопуляциях *A. vernalis* равна 0,190 что ниже, чем определенная ожидаемая гетерозиготность в популяциях *A. vernalis* Пермского края (0,290). Таким образом, ожидаемая доля гетерозиготных генотипов ( $H_S$ ) в ценопопуляциях *A. vernalis* ниже, чем в общей выборке.

Наименьшие показатели доли гетерозиготных генотипов ( $H_S$ ) отмечены у праймера X11, определенная им ожидаемая гетерозиготность составляет 0,153, а самые высокие значения этого показателя отмечены у *A. vernalis* при ПЦР с праймером M27 ( $H_S = 0,216$ ). Наблюдаемое генетическое разнообразие *A. vernalis* сосредоточено внутри популяций ( $G_{ST} = 0,348$ ). Данные показатели были сопоставлены со значениями, полученными у 10 популяций *A. vernalis*, расположенными в Пермском крае Российской Федерации ( $G_{ST} = 0,399$ ).

Наименьшее генетическое расстояние отмечено между Av3 и Av5 ( $D = 0,141$ ), а наибольшее – между Av1 и Av4 ( $D = 0,281$ ).

По результатам ISSR-анализа генетического полиморфизма 5 ценопопуляций выявлено, что изученные ценопопуляции имеют высокие показатели генетического разнообразия. В 4 ценопопуляциях *A. vernalis* были обнаружены редкие фрагменты ДНК. Четвертая ценопопуляция *A. vernalis* (Av4) имеет более низкие показатели генетического разнообразия ( $P_{95} = 0,424$ ;  $H_e = 0,179$ ,  $n_a = 0,500$ ) по сравнению с другими ценопопуляциями этого вида, изученными на территории Северного Казахстана. Наибольшее генетическое разнообразие зафиксировано в самых северных ценопопуляциях Казахстанской области, ниже эти показатели в ценопопуляциях Акмолинской области.

Для оценки генетического разнообразия был использован коэффициент генетической оригинальности. Высокие значения КГО свидетельствуют о повышенном присутствии редких аллелей, а низкие значения характерны для популяций, где редкие аллели практически не встречаются [4]. Максимальное значение КГО отмечено в ценопопуляции Av5, а минимальное – в Av3. Генофонды ценопопуляций Av1 и Av3 характеризуются как типичные, а Av2, Av4 и Av5 – как специфичные. Показатели КГО ценопопуляций *A. vernalis* Северного Казахстана ниже по сравнению с этими же показателями ценопопуляций Пермского края Российской Федерации, определенными ранее. Это может быть связано с более центральным расположением ценопопуляций *A. vernalis* Северного Казахстана в ареале вида. В Пермском крае изучались самые северные местообитания этого вида в его ареале. В четвертой ценопопуляции *A. vernalis* отмечается обеднение генофонда, генофонды остальных изученных ценопопуляций этого вида в удовлетворительном состоянии.

Работа выполнялась в рамках проекта грантового финансирования Министерства образования и науки Республики Казахстан на 2018–2020 гг. № AP05132458 «Молекулярно-генетический анализ генофондов популяций редких видов растений Северного Казахстана», номер государственной регистрации 0118PK00404.

#### Библиографический список

1. Красная книга Казахстана. Астана: ТОО АртPrint XXI, 2014. Т. 2. Растения. 452 с.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства: пособие для врачей. М.: Новая волна, 2006. 1206 с.
3. Генетическое разнообразие ценопопуляций адониса весеннего (*Adonis vernalis* L.), произрастающих в северных регионах Казахстана / Г. Султангазина, И.С. Бейшова, В.А.

Ульянов и др. // Инновационные подходы в современной науке: сб. ст. по материалам XXX междунар. науч.-практ. конф. М.: Интернаука, 2018. № 18(30). С 7–12.

4. Боронникова С.В. Молекулярно-генетический анализ и оценка состояния генофондов ресурсных видов растений Пермского края: монография. Пермь, 2013. 223 с.

## **ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ IN VITRO НЕКОТОРЫХ СОРТОВ *SYRINGA VULGARIS* L.**

Бурдаков В.А.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Шибанова Н.Л.**

Сирень (*Syringa vulgaris* L.) – широко распространенный в нашей стране декоративный кустарник, который благодаря своему внешнему виду часто используется при озеленении городской территории, создании парков и аллей, в качестве садовой культуры. Благодаря селекционной работе известно более 2300 сортов. Однако многие, и зачастую самые декоративные сорта плохо размножаются вегетативным способом, традиционно применяемым для разведения древесных пород. В связи с этими трудностями ценные сорта редко встречаются в питомниках, что не только препятствует их распространению в культуре, но и создает опасность полного их исчезновения и обеднения генофонда. Решением этой проблемы может стать использование метода микроклонального размножения [1, 2].

Цель данной работы – введение в культуру *in vitro* шести сортов *Syringa vulgaris* L. – «Капитан Бальте», «Мадам Жюль Фингер», «Жюль Симон», «Президент Гревис», «Индия», «Мадам Лемуан».

Исследования проводились в 2018 г. в лаборатории микроклонального размножения кафедры ботаники и генетики растений Пермского государственного национального исследовательского университета. В качестве эксплантов использовались пазушные почки с частью стебля длиной 2–4 см. Стерилизация проводилась в 3 этапа: протерилизация – погружение экспланта в раствор нейтрального детергента на 30–60 мин. и промывка проточной водой; стерилизация – погружение в 7% раствор гипохлорита натрия ("Белизна") на 15–20 мин., в 96% этиловый спирт на 1–2 мин., в 3% раствор перекиси водорода на 10–20 мин. и в слабый раствор перманганата калия на 10 мин.; постстерилизация – промывка в трех сменах стерилизованной дистиллированной воды. Экспланты высаживались на питательную среду Мурасиге и Скуга (MS) со стандартным минеральным составом, 2% сахарозой, 7% агар-агаром. Всего было высажено 524 экспланта. Пробирки с питательной средой стерилизовали в автоклаве Sanyo MLS-3780 при давлении 1 атм. и температуре 120°C в течение 15 мин. Посадка проводилась в ламинар боксе в стерильных условиях. Экспланты выращивались в условиях искусственного освещения (2790 люкс), период освещения 14/10, при температуре +20 ± 2°C.

Процесс клонального микроразмножения традиционно делится на четыре этапа [3]. Первый этап включает получение хорошо растущей стерильной культуры, выход которой определялся через неделю после посадки, и далее раз в неделю на протяжении месяца после посадки. Отмечается очень высокий уровень контаминации, составляющий у всех изученных сортов более 80%. Наибольший процент выхода стерильной культуры зафиксирован у сорта «Мадам Жюль Фингер». Он составил 18%.

Наличие эксплантов с признаками регенерации определялось два раза – через 14 и 28 дней после посадки. Для всей жизнеспособной культуры отмечается образование каллуса.

Для введения изученных сортов сирени в культуру *in vitro* использовалось 6 вариантов среды: I – MS + б-индолил-3-уксусная кислота (ИУК) 0,1 мг/л + 6-бензиламинопурина (БАП) 1,0 мг/л, II – MS + а-нафтилуксусная кислота (НУК) 0,1 мг/л + БАП 1,0 мг/л, III – MS + 2,4-дихлорфеноксисукусная кислота (2,4-Д) 0,1 мг/л, IV – MS + гетероауксин (ГА) 0,3 мг/л, V – MS + ИУК 0,1 мг/л + БАП 1,0 мг/л + тетрациклин 100 мг/л, VI – MS + НУК 0,1 мг/л + БАП 1,0 мг/л + тетрациклин 100 мг/л. В питательную среду добавлялись витамины: тиамин 0,1 мг/л, пиридоксин 0,5 мг/л и никотиновая кислота 0,5 мг/л. При анализе результатов развития эксплантов сирени на твердой питательной среде MS было установлено, что наилучшей жизнеспособностью обладает сорт «Мадам Жюль Фингер». Оптимальным является третий вариант среды MS с добавлением фитогормона 2,4 Д в концентрации 0,1 мг/л. Процент эксплантов с признаками регенерации составил 83. Для остальных сортов процент жизнеспособной культуры был низкий, наилучшие показатели получены: «Капитан Бальте» – 72% на III варианте среды, «Жюль Симон» – 69 на IV варианте среды, «Президент Гриви» – 78 на VI варианте среды, «Индия» – 43 на II варианте среды, «Мадам Лемуан» – 72% на II варианте среды.

### Библиографический список

1. Бутенко Р.Г. Биология культивируемых клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: ФБК-Пресс, 1999. 160 с.
2. Практикум по сельскохозяйственной биотехнологии / Калашникова Е.А. и др. М.: КолосС, 2006. 144 с.
3. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений. М.: Наука, 1983. 96 с.

## ФЕРТИЛЬНОСТЬ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ПЫЛЬЦЫ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *IRIS* L. В УЧЕБНОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ ПГНИУ

Валиуллина А.Р.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: доцент Шумихин С.А.**

Характеристика способности к прорастанию пыльцы имеет большое значение для изучения семенного размножения и селекции растений. Принято различать термины жизнеспособность и оплодотворяющая способность пыльцы. Жизнеспособность пыльцы можно определить как способность мужского гаметофита к росту на соответствующих тканях пестика, а оплодотворяющую способность, или зиготический потенциал, пыльцевого зерна как способность вызывать полное оплодотворение. Оплодотворяющую способность пыльцы ещё называют фертильностью [1, 2].

Исследования проводились на базе Учебного ботанического сада ПГНИУ в 2018 г. Предметом исследования служила коллекция ирисов, включающая 9 видов: *Iris klattii* Kem.-Nath., *I. ensata* Thunb., *I. setosa* Pall., *I. pumila* L., *I. montana* Nuttall ex. Dykes, *I. sibirica* L. (4 сорта), *I. × hybrida* hort. (41 сорт и 5 сеянцев), *I. pseudacorus* L. (2 сорта), *I. versicolor* L. (2 сорта), а также межвидовой гибрид *I. versicolor* × *I. montana*, обозначаемый нами как 'Гибрид 2'.

Жизнеспособность свежесобранной пыльцы определяли путем ее проращивания на искусственных средах (*in vitro*) по методике И.Н. Голубинского [3], содержащих 1% агар-агар и различные концентрации сахарозы (5, 10, 15%). Проросшей считали пыльцу, у которой длина пыльцевой трубки превышала диаметр пыльцевого зерна. При этом



учитывали время начала формирования пыльцевых трубок и время максимального количества проросших пыльцевых зерен. Фертильность пыльцевых зерен определяли ацетокарминовым методом [1]. Подсчитывали процент фертильных пыльцевых зерен от общего числа пыльцевых зерен, наблюдаемых в 8–10 полях зрения микроскопа. Статистическая обработка результатов проводилась по методике, описанной Г.Ф. Лакиным [4].

Результаты исследования представлены в табл. 1.

Таблица 1

Жизнеспособность и фертильность пыльцы некоторых видов и сортов ириса (2018 г.)

Вид\сорт	Время, ч*	Жизнеспособность пыльцы (%), при разных концентрациях сахарозы			Фертильность пыльцы, %	
		5%	10%	15%	M+m, %	CV, %
		M+m, %	M+m, %	M+m, %		
<i>Iris sibirica</i>	6,5	34,72±13,10	39,62±8,73	62,45±2,60	92,58±0,80	3,00
<i>Iris</i> × <i>hybrida</i> ‘Zoja Kosmodemjanskaja’	6,5	26,28±4,14	29,50±14,83	26,88±5,26	80,16±3,22	12,00
<i>Iris</i> × <i>hybrida</i> Сеянец ‘Зелено-желтый’	6,5	32,34±6,70	42,51±0,78	12,59±2,53	90,81±1,64	5,00
<i>Iris sibirica</i> ‘Alba’	1,0	10,44±3,78	15,00±1,18	5,00±0,00	97,37±0,96	3,00
<i>Iris pseudacorus</i>	4,0	92,93±4,53	72,5±6,37	65,83±22,38	99,32±0,54	2,00
<i>Iris setosa</i>	4,0	50,07±13,76	65,87±32,13	73,76±11,32	97,23±0,77	2,00
<i>Iris versicolor</i> ‘Настоящий друг’	1,0	0,00	50,00±0,00	0,00	97,84±1,04	3,00
<i>Iris sibirica</i> ‘King fischer’	5,0	45,83±5,10	28,70±13,94	75,24±9,55	81,67±3,08	11,00
<i>Iris montana</i>	5,0	68,73±4,43	48,42±20,97	57,27±15,44	92,41±1,59	5,00
<i>Iris versicolor</i> × <i>Iris montana</i> ‘Гибрид 2’	5,0	43,92±3,07	36,11±18,94	76,25±4,59	99,40±0,42	1,00
<i>Iris sibirica</i> ‘Perry’s Blue’	6,0	33,45±8,45	26,88±4,31	0,00	55,08±4,34	24,00
<i>Iris pseudacorus</i> ‘Воспоминание’	6,0	45,73±12,23	43,92±7,89	62,67±15,41	98,92±0,35	1,00
<i>Iris klattii</i>	6,0	59,10±16,48	81,85±8,10	93,64±3,91	95,53±1,18	4,00
<i>Iris versicolor</i> ‘Cascade Mist’	6,0	16,67±0,00	0,00	0,00	54,02±7,89	44,00

Примечание\*- указано время, при котором наблюдалось максимальное число проросших пыльцевых зерен.

Фертильность пыльцы у сортов *I. × hybrida* варьирует от 15,69 ± 2,70 до 98,98 ± 0,55%. Высокая вариабельность данного признака связана со сложным гибридным происхождением сортов ириса гибридного. Средний показатель фертильности пыльцы у *I. × hybrida* в целом составил 75,22 ± 3,50%. Также, высокую вариабельность по данному признаку показали сорта *I. pseudacorus*, у которых фертильность пыльцы изменялась от 2,68 ± 2,25 (сорт ‘Ally Oors’) до 98,92 ± 0,35% (сорт ‘Воспоминание’). Максимальные показатели фертильности пыльцы (99,40±0,42%) обнаружены у межвидового гибрида *I. versicolor* × *I. montana* ‘Гибрид 2’. Остальные изученные виды ирисов имеют также достаточно высокие показатели фертильности пыльцы от 64,78 (*I. pumila*) до 99,32% (*I. pseudacorus*).

Изученные виды и сорта ириса различаются по срокам начала прорастания пыльцы на искусственных средах, содержащих от 5% до 15% сахарозы. Раньше других видов, уже через 0,2 ч. (12 мин.) после нанесения на искусственную среду с содержанием сахарозы 15%, начинает формировать пыльцевые трубки пыльца *I. klattii*. Пыльца сортов *I. × hybrida* начинает прорасти только через 1,5–2 ч. на искусственной среде с содержанием сахарозы 10%. В среднем, пыльцевые трубки у изученных видов и сортов ириса начинают формироваться спустя 0,5–1 ч. после начала опыта.

Максимальное прорастание пыльцы на среде с содержанием 5% сахарозы наблюдается у 4 изученных таксонов ириса: *I. pseudacorus*, *I. montana*, *I. sibirica* ‘Perry’s Blue’, *I. versicolor* ‘Cascade Mist’. Максимальное прорастание на среде с содержанием 10% сахарозы наблюдается у 4 таксонов: *I. sibirica* ‘Alba’, *I. versicolor* ‘Настоящий друг’, *I. × hybrida* ‘Zoja Kosmodemjanskaja’, *I. × hybrida* Сеянец ‘Зелено-желтый’. Максимальное прорастание на среде с содержанием 15% сахарозы наблюдается у 5 изученных таксонов: *I. sibirica* (также его сорт ‘King fischer’), *I. setosa*, *I. pseudacorus* ‘Воспоминание’, а также у ‘Гибрид 2’ *I. versicolor × I. montana*.

Таким образом, проращивать пыльцу *I. pseudacorus* и *I. montana* следует на искусственной среде с концентрацией сахарозы 5%, *I. × hybrida* – на среде с содержанием сахарозы 10%, *I. sibirica*, *I. setosa* и *I. klattii* – на среде с концентрацией сахарозы 15%. Наименьшей жизнеспособностью обладает пыльца сортов *I. × hybrida*, а также *I. versicolor* и *I. sibirica* (сорт ‘Alba’). Наибольшей жизнеспособностью отличается пыльца *I. sibirica*, *I. pseudacorus*, *I. setosa*, *I. montana*, *I. klattii*, также *I. sibirica* ‘King fischer’, *I. pseudacorus* ‘Воспоминание’ и межвидового гибрида ‘Гибрид 2’ *I. versicolor × I. montana*.

В целом виды с высокими показателями фертильности пыльцы имели также достаточно высокие показатели ее жизнеспособности. В связи с этим можно утверждать, что оценка фертильности пыльцы с использованием ацетокарминового метода окрашивания дает возможность оценить ее потенциальную жизнеспособность.

#### Библиографический список

1. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Колос, 1980. С. 208–215.
2. Цаценко Л.В., Синельникова А.С. Пыльцевой анализ в селекции растений // Научный журнал КубГАУ. 2012. № 77(03). С. 1–2.
3. Голубинский И.Н. Биология прорастания пыльцы. Киев: Наук. думка, 1974. 368 с.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.

### ВНУТРИВИДОВАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ЗАПАДНОЙ РАСЫ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ (*LARIX SIBIRICA* LEDEB.) НА УРАЛЕ

Васильева Ю.С.<sup>1</sup>, Чертов Н.В.<sup>1</sup>, Пришнивская Я.В.<sup>1,2</sup>, Жуланов А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> Естественнаучный институт Пермского государственного национального исследовательского университета, г. Пермь, Россия

Изучение популяционно-генетической структуры лесных древесных растений необходимо для оценки и сохранения их внутривидового генетического потенциала [1]. Одним из инструментов изучения генетических процессов являются молекулярно-генетические маркеры. Особенно большое значение их использование приобретает у лесобразующих видов хвойных растений, которые обладают большим периодом

онтогенеза, что затрудняет применение традиционных генетических методов [2]. Особенно важны исследования закономерностей распределения генетической изменчивости для видов, занимающих обширные ареалы и имеющих хозяйственное значение [3]. Одними из ценных и широко распространенных хвойных видов растений России являются виды рода *Larix* Mill, имеющие огромное экологическое и экономическое значение. На Урале род *Larix* представлен западной расой лиственницы сибирской *L. sibirica* Ledeb.

Целью исследования являлось изучение генетического разнообразия и внутривидовой генетической дифференциации западной расы лиственницы сибирской на Урале. Объектами исследований избраны пятнадцать выборок *L. sibirica*, по пять с Южного (Kar, Ir, VS, Kul, Zil), Северного (Tul, Ish, Krv, Bnd, Gn) и Среднего (Kch, Bil, Pol, Osa, Sks) Урала. Выборки производились из разных по условиям произрастания насаждений лиственницы (горные и равнинные области района исследований).

Исследование генетической дифференциации *L. sibirica* Урала проведено на основе анализа полиморфизма ДНК с помощью двух типов микросателлитных маркеров с разным типом наследования – полилокусных доминантных ISSR-маркеров и монолокусных кодоминантных ядерных SSR-маркеров, основанных на полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для ISSR-ПЦР применяли стандартную методику [4], а для SSR-анализа использовали модификацию метода с использованием универсального флуоресцентно меченного праймера M13 и капиллярного электрофореза [5]. Для детекции продуктов ПЦР использован электрофорез в 2% агарозном геле в 1xTBE буфере, с окрашиванием бромистым этидием и фотографированием в проходящем УФ-свете, а также капиллярный электрофорез на генетическом анализаторе Genetic Analyzer 3500xL. Показатели популяционной статистики рассчитаны в программе Arlequin v3.5.2.2., с использованием макроса для MS-Excel GenAIEx 6 и пакета AMOVA. Кластерный анализ изученных выборок был проведен методами UPGMA и Neighbor-Joining (NJ) в программе Mega 5, а также с помощью программы STRUCTURE 2.3.4., где количество кластеров (K) находилось в диапазоне от 4 до 17. Для определения наиболее вероятного числа генетических групп была использована веб-программа STRUCTURE Harvester. Анализ главных компонент (PCA – Principal Component Analysis) выполнен в программе PAST v3.

Анализ параметров генетической структуры *L. sibirica* по ISSR-маркерам показал, что изученные выборки дифференцированы в значительной степени; на межвыборочную компоненту приходится 33,5% всего генетического разнообразия, большая часть его сосредоточена внутри выборок. На UPGMA-дендрограмме выборки отчетливо дифференцированы друг от друга, узлы ветвления имеют высокий индекс бутстрепа (>70%). Можно выделить шесть основных групп: в первую вошли выборки Kul и Zil, во вторую – Kar, Ir и VS Южного Урала; в третьей – выборки Северного Урала (Tul, Ish, Kch); четвертая объединились предгорные выборки Среднего Урала (Sks, Bil); пятая – равнинные выборки Северного Урала (Bnd, Krv, Gn); шестую составляют две выборки (Pol, Osa) Среднего Урала. Анализ популяционной структуры в STRUCTURE 2.3.4. выявил 13 отдельных генетических кластеров (K=13), а при анализе групп выборок при K = 6 обнаруживаются кластеры генотипов, соответствующие шести группам, выявленным при UPGMA-анализе.

Исследование популяционной структуры с помощью F-статистик Райта (по результатам SSR-анализа), показало, что все изученные выборки *L. sibirica* характеризуются дефицитом гетерозиготных генотипов, только 8,9% всей наблюдаемой изменчивости приходится на межвыборочную компоненту, то есть значительно дифференцированы. На NJ-дендрограмме отчетливо выделяются три кластера. Первый объединяет выборки Kar, Ir и VS; второй – Kul и Zil; третий – Kch, Bnd и Bil. Кроме того, заметно выделяются выборки Sks и Pol. Положение оставшихся выборок на дендрограмме не позволяет однозначно отнести их к какой-либо группе. Анализ данных SSR-анализа в программе STRUCTURE 2.3.4. показал, что данные образуют 12 или 13 генетических кластеров, уточнение с помощью альфа-критерия выявило, что выделение на 12 кластеров более достоверно. При анализе групп

выборок при  $K=6$  обнаруживаются те же кластеры генотипов, соответствующие шести вышеописанным группам.

Распределение выборок в координатах главных компонент (PCA) по обоим типам маркеров оказалось неравномерным, но не позволило выделить четко обособленных групп выборок, при этом распределение изученных выборок *L. sibirica* по двум типам маркеров (ISSR и SSR) было аналогичным.

Таким образом, изученные 15 выборок западной расы *L. sibirica* на Урале дифференцированы в значительной степени и характеризуются дефицитом гетерозиготных генотипов. Большая часть всего наблюдаемого генетического разнообразия сосредоточена внутри популяций. Наиболее вероятным является разделение 15 выборок на 12 или 13 генетических кластеров, или генетических популяций, которые в свою очередь образуют шесть групп.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00348\18.*

### Библиографический список

1. Янбаев Ю.А. Эколого-популяционные аспекты адаптации лесообразующих видов к условиям природной и техногенной среды: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Тольятти, 2002. 35 с.
2. Орешкова Н.В., Белоконь М.М., Жамъянсурен С. Генетическое разнообразие, популяционная структура и дифференциация лиственниц сибирской, Гмелина и Каяндера по данным SSR-маркеров // Генетика. 2013. Т. 49, № 2. С. 204–213.
3. Биоразнообразие лиственниц Азиатской России / под ред. Л.И. Милютина, С.П. Ефремова. Новосибирск: Гео, 2010. 159 с.
4. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. Vol. 20. P. 176–183.
5. Schuelke M. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments // Nature Biotechnology. 2000. Vol. 18, № 2. P. 233–234.

## ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *ACE* И *ADRB1* У ЕДИНОБОРЦЕВ РАЗНОЙ КВАЛИФИКАЦИИ Г. ПЕРМИ

Вороно А.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., проф. Боронникова С.В.**

Индивидуальные различия проявления физических качеств человека, связанных со спортивной деятельностью, обусловлены ДНК-полиморфизмами, которые выявлены у более чем 140 генов [1]. К настоящему моменту наиболее полно изучены гены-кандидаты развития физических качеств в циклических видах спорта, а ациклические виды спорта, в том числе единоборства, изучены в меньшей степени. Цель исследования – анализ полиморфизма генов *ACE* и *ADRB1* и определение общего генетического балла у единоборцев из трех спортивных школ г. Перми. Гены *ACE* и *ADRB1* являются генами сердечно-сосудистой системы, а также ассоциированы с развитием и проявлением скоростно-силовых качеств человека.

Буккальный эпителий для анализа был собран у 98 спортсменов, занимающихся единоборствами в КГБУ ДО «СДЮСШОР по дзюдо и самбо», МАУ ДО «СДЮСШОР по дзюдо и самбо» и МБОУ ДОД «СДЮСШОР по карате» г. Перми, среди которых 42 самбиста и 56 каратистов. Среди обследованных спортсменов было 91 юноши и 7 девушек, возраст которых варьировал от 9 до 20 лет. Спортсменов в зависимости от их квалификации

разделили на 2 группы по 48 человек: «Группа I» с более высокой квалификацией (мастер спорта, кандидаты в мастера спорта, второй и третий взрослый, первый юношеские разряды), «Группа II» с низкой квалификацией (второй и третий юношеский разряд или отсутствие разряда). Выделение ДНК проводилось сорбентным методом с помощью набора реагентов «Проба ГС».

У спортсменов единоборцев изучены полиморфные локусы двух генов, ассоциированных с развитием качества «скорость/сила», такие как полиморфизм I/D гена *ACE* и Ser49Gly гена *ADRB1*. Последовательности праймеров для ПЦР были взяты из литературных источников; праймеры синтезированы в ЗАО «Синтол». Полиморфизм исследуемых локусов выявляли с использованием ПЦР по программам, предусмотренным для гена *ADRB1* [2] и для гена *ACE* [3]. Рестрикцию продуктов амплификации гена *ADRB1* проводили с помощью эндонуклеазы рестрикции *Eco 0109 I* по инструкции фирмы производителя. Анализ длин амплифицированных фрагментов ДНК проводился методом электрофоретического разделения в 2% агарозном геле с фотографированием с помощью системы гель-документации Gel Doc XR.

В исследованной выборке из 98 единоборцев генотип I/I гена *ACE*, которому соответствовало наличие одного фрагмента ДНК длиной 477 п.н, встречался с частотой 0,12 (таблица). Генотип D/D, который определялся по фрагменту длиной 109 п.н., выявлен с частотой 0,24. Гетерозигота I/D, для которой характерно наличие двух фрагментов длиной 477 и 190 п.н. одновременно, определена с высокой частотой – 0,64.

При анализе гена *ADRB1* наличие фрагмента длиной 564 п.н. соответствовало гомозиготе Ser/Ser, которая встречалась с частотой 0,14. Фрагментам ДНК длиной в 345 п.н. и 219 п.н. соответствовал генотип Gly/Gly, выявленный с самой высокой частотой – 0,49. Гетерозиготу Ser/Gly определяли по трем фрагментам (564 п.н., 345 п.н. и 219 п.н.), она встречалась с частотой 0,37.

Таблица

Распределение частот аллелей генов *ADRB1* и *ACE* и генотипов спортсменов разной квалификации г. Перми (n = 96)

Генотипы/ аллели	Группы спортивной квалификации (число спортсменов)		Всего в выборке	$F_{оп} > F_{st}$
	Группа I	Группа II		
<b>Ген <i>ADRB1</i></b>				
Ser	0,29	0,35	0,33	0,63<1,96
Gly	0,71	0,65	0,67	0,63<1,96
Ser/Ser	0,19 (9)	0,11 (5)	0,14 (14)	1,11<1,96
<b>Ser/Gly</b>	0,21 (10)	<b>0,50 (24)</b>	0,37(36)	<b>3,03&gt;1,96</b>
<b>Gly/Gly</b>	<b>0,60 (29)</b>	0,39 (19)	0,49(48)	<b>2,07&gt;1,96</b>
<b>Ген <i>ACE</i></b>				
I	0,53	0,36	0,44	1,69<1,96
D	0,47	0,64	0,56	1,69<1,96
<b>I/I</b>	<b>0,23 (11)</b>	0,02 (1)	0,12 (12)	<b>3,51&gt;1,96</b>
I/D	0,60 (29)	0,69 (33)	0,64 (63)	0,93<1,96
D/D	0,17 (8)	0,29 (14)	0,24(23)	1,41<1,96

Примечания: Ser, Gly – аллели гена *ADRB1*; Ser/Ser, Ser/Gly, Gly/Gly – генотипы гена *ADRB1*; I, D – аллели гена *ACE*; I/I, I/D, D/D – генотипы гена *ACE*; Группа I – спортсмены с высокими спортивными разрядами (КМС, МС, 2 и 3 взрослые, 1 юношеский); Группа II – спортсмены с низкими спортивными разрядами (2 и 3 юношеские, не имеющие разряда);  $F_{оп}$  – F-критерий Фишера.  $F_{st}$ -критерий Фишера стандартный равен 1,96 (при  $p = 0,05$ ); жирным шрифтом выделены значения, у которых обнаружены значимые различия.

При определении полиморфизма I/D гена *ACE* у единоборцев разной квалификации г. Перми, было установлено, что частота аллелей I и D в «Группе I» более квалифицированных

спортсменов составила 0,53 и 0,47 соответственно, а в «Группе II» с меньшей квалификацией – 0,36 и 0,64 (таблица). Частоты аллелей Ser и Gly *ADRB1* среди спортсменов первой группы равны 0,29 и 0,71 соответственно, а во второй группе – 0,35 и 0,65 соответственно.

Анализ частот генотипов и аллелей гена *ADRB1* у спортсменов «Группа I» по сравнению с «Группа II», показал значимые различия с использованием критерия Фишера по благоприятному генотипу Gly/Gly ( $F_{оп}: 2,07 > 1,96$  при  $p = 0,05$ ). Значимые различия были также установлены по менее благоприятному генотипу Ser/Gly ( $F_{оп}: 3,00 > 1,96$  при  $p = 0,05$ ). Анализ частот встречаемости генотипов и аллелей гена *ACE* у единоборцев «Группа I» и «Группа II» показал значимые различия этого показателя только по генотипу I/I ( $F_{оп}: 3,51 > 1,96$  при  $p = 0,05$ ), который является менее благоприятным для проявления скоростно-силовых качеств, но более благоприятный для проявления выносливости [4], которая также необходима успешным спортсменам.

Таким образом, на основании результатов генотипирования спортсменов различной квалификации, можно сделать вывод о том, что полиморфизм генов *ADRB1* и *ACE* влияет на успешность занятий единоборствами. Спортсменам и тренерам были даны рекомендации по коррекции тренировочного процесса.

#### Библиографический список

1. Гены-маркеры предрасположенности к скоростно-силовым видам спорта / В.А. Рогозкин и др. // Теория и практика физической культуры. 2005. № 1. С. 2–4.
2. Conservation of the Cardiostimulant Effects of (–)-Norepinephrine Across Ser49Gly and Gly389Arg Beta1-Adrenergic Receptor Polymorphisms in Human Right Atrium In Vitro / P. Molenaar, G. Rabnott, I. Yang, K.M. Fong // Journal of the American College of Cardiology. 2002. Vol. 40(7). P. 1275–1282.
3. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1) / B. Rigat, C. Hubert, P. Corvol, F. Soubrier // Nucleic Acids Research. 1992. Vol. 20, № 6. P. 1433.
4. Ахметов И.И., Ильин В.Н., Дроздовская С.Б. Молекулярно-генетические маркеры в спортивном отборе // Наука в олимпийском спорте. 2013. № 4 (27). С. 26–31.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ЗАПАДНОЙ РАСЫ *L. SIBIRICA* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ

Жуланов А.А.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., профессор Боронникова С.В.**

Для сохранения биоразнообразия лесов необходимо изучение внутривидового генетического разнообразия древесных растений [1]. Виды рода *Larix* Mill. являются самыми распространенными древесными растениями на Земле, в том числе и в России [2].

Для исследования генетического полиморфизма древесных растений, в том числе видов рода *Larix*, широко применяются микросателлитные ДНК-маркеры. Использование универсального флуоресцентно меченного праймера M13 для снижения стоимости и трудоемкости микросателлитного анализа было предложено ещё в 2000 г. [3]. Данный метод успешно применялся при изучении различных видов лиственниц, однако изучение популяций западной расы *L. sibirica* в основном на западном макросклоне Уральских гор с использованием M13-SSR (simple sequence repeats) маркеров ранее не проводилось.

Для проведения анализа были собраны образцы хвои с 28–32 деревьев в каждой из 15 изучаемых популяций, расположенных в Челябинской области, республике Башкортостан,

Пермском крае и Свердловской области. Выборки обозначены как Kar, Ir, VS, Kul, Zil, Tul, Ish, Krv, Bnd, Gn, Kch, Pol, Osa, Sks, Bil. Для анализа полиморфизма микросателлитных локусов *L. sibirica* на основе литературных данных [4] были отобраны восемь SSR-маркеров (bcLK189, Ld101, bcLK228, Ld56, Ld50, bcLK253, Ld42, bcLK263). Фрагментный анализ микросателлитного полиморфизма проводился на секвенаторе ABI 3500xl.

Дендрограмма генетического сходства на основании матрицы генетических расстояний построена методом Neighbor-Joining. Для описания генетической структуры и исследования соответствия между кластерами генотипов и группами выборок применялась программа STRUCTURE 2.3.4. Для выбора оптимального числа кластеров K проводился анализ с помощью сервиса STRUCTURE Harvester.

Экспериментальным путем были подобраны концентрации реактивов и условия проведения ПЦР, обеспечивающие оптимальную амплификацию всех выбранных локусов [5].

У 451 деревьев из 15 выборок западной расы *L. sibirica* общее число аллелей на локус варьировало от 4 (bcLK253) до 37 (bcLK263). Наблюдаемая гетерозиготность и ожидаемая гетерозиготность ( $H_O$  и  $H_E$ ) на общую выборку *L. sibirica* равны 0,461 и 0,623 соответственно. Данные показатели максимальны в выборках Ir ( $H_O = 0,567$ ) и Gn ( $H_E = 0,682$ ), а минимальны – в выборках Ish ( $H_O = 0,366$ ) и Sks ( $H_E = 0,520$ ).

Абсолютное и эффективное число аллелей на локус оказалось наибольшим в выборке VS, произрастающей в окрестностях с. Верхняя Санарка Челябинской области ( $n_a = 8,500$ ,  $n_e = 5,276$ ), а наименьшим – в выборке Sks ( $n_a = 4,250$ ,  $n_e = 2,283$ ) из ООПТ «Лиственничная роща» в Суксунском районе Пермского края.

Анализ параметров генетической структуры на общую выборку западной расы *L. sibirica* показал, что наибольший вклад в дифференциацию изученных выборок вносит локус Ld56.

На дендрограмме генетического сходства 15 выборок западной расы *L. sibirica* отчетливо выделены три кластера (рисунок).

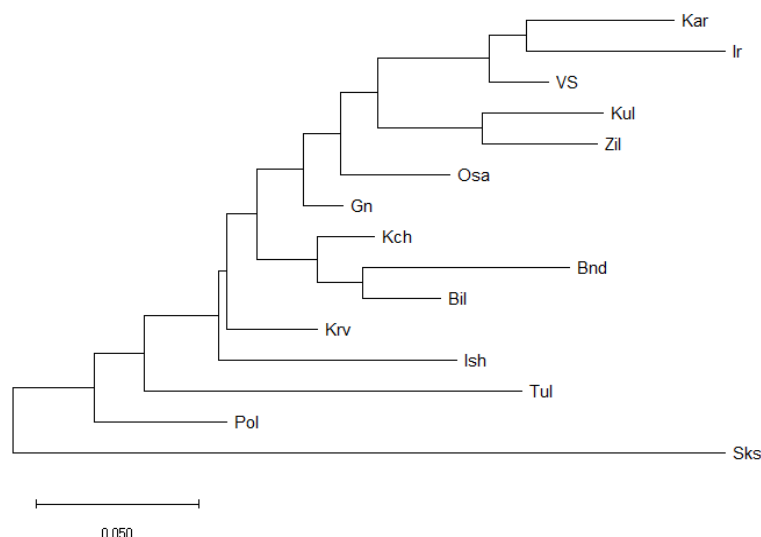


Рисунок. Дендрограмма генетического сходства 15 выборок западной расы *L. sibirica*, построенная методом Neighbor-Joining; снизу указана шкала генетического расстояния

Первый кластер объединяет выборки Kar, Ir и VS; второй – Kul и Zil; третий – Kch, Bnd и Bil. Кроме того, выборки Sks и Pol генетически сильно дифференцированы от остальных выборок.

Анализ распределения генотипов в программа STRUCTURE 2.3.4. показал, что показатель DeltaK минимален при K = 12. Для подтверждения результата аналогичный

анализ был проведен с использованием пакета adegenet. По предварительной оценке с помощью байесовского информационного коэффициента ВИС данные образуют 12 или 13 кластеров. Уточнение с помощью альфа-критерия показало, что выделение 12 кластеров более достоверно. Итак, наиболее вероятным оказывается разделение исследуемых выборок на 12 генетических кластеров.

Таким образом, изученные 15 выборок западной расы *L. sibirica* на западном склоне Уральских гор дифференцированы в значительной степени и характеризуются дефицитом гетерозиготных генотипов. Между популяциями наблюдается 32% дефицит гетерозигот ( $F_{IT} = 0,325$ ). Большая часть всего наблюдаемого генетического разнообразия сосредоточена внутри популяций, так как только 8,9% всей наблюдаемой изменчивости приходится на межпопуляционную компоненту. Наиболее вероятным является разделение 15 выборок на 12 генетических кластеров.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00348\18.*

### Библиографический список

1. Милютин Л.И. Биоразнообразие лиственниц России // Хвойные бореальной зоны. – 2003. № 1. С. 6–9.
2. Путенихин В.П., Фарушкина Г.Г., Шигапов З.Х. Лиственница Сукачева на Урале: изменчивость и популяционно-генетическая структура. М.: Наука, 2004. 276 с.
3. Schuelke M. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments // Nature Biotechnology. 2000. Vol. 18, № 2. P. 233–234.
4. Wagner S., Gerber S., Petit R.J. Two highly informative dinucleotide SSR multiplexes for the conifer *Larix decidua* (European larch): Technical advances and genetic resources // Molecular Ecology Resources. 2012. Vol. 12. № 4. P. 717–725.
5. Жуланов А.А. Подбор условий и оптимизация методики амплификации микросателлитных локусов *L. sibirica* с использованием универсального праймера M13 // Проблемы и перспективы развития экспериментальной науки: сб. статей Междунар. науч.-практ. конф. Уфа, 2018. С. 35–38.

## ШТАММ-ДЕСТРУКТОР АРОМАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ *PSEUDOMONAS* SP. КТ1.311

Истомина А.В.<sup>1</sup>, Корсакова Е.С.<sup>1,2</sup>, Плотникова Е.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

Проблема очистки наземных и водных экосистем остается актуальной на протяжении последних десятилетий. Более перспективным методом очистки природных экосистем от загрязнения различными моно(поли)ароматическими соединениями является использование микроорганизмов-деструкторов [2]. Данные микроорганизмы населяют широкий спектр засоленных экосистем. К таковым относится район промышленных разработок Верхнекамского месторождения калийно-магниевых и натриевых солей (ВКМКС, г. Соликамск, г. Березники, Пермский край), обладающий уникальными экологическими условиями для жизнедеятельности микроорганизмов [1].

Цель работы – характеристика штамма *Pseudomonas* sp. КТ1.311, выделенного из отходов соледобывающего предприятия (г. Березники).



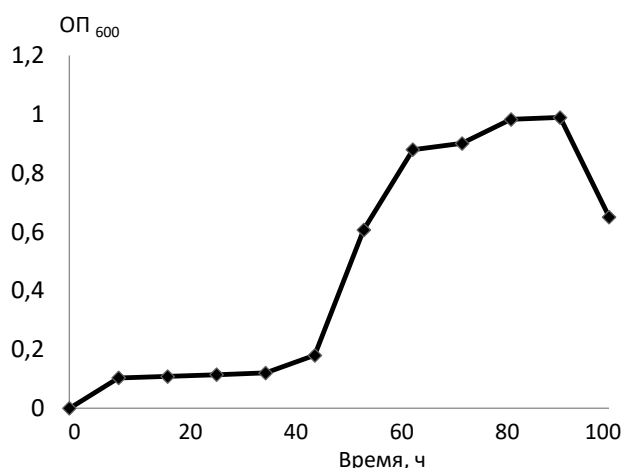
Скрининг штаммов рода *Pseudomonas* (близкородственных виду *Pseudomonas xanthomarina*), выделенных из района промышленных соленосных залежей (Пермский край), позволил выявить галотолерантный штамм *Pseudomonas* sp. КТ1.311 – активный деструктор фталатов и моно(поли)ароматических углеводов.

Штамм *Pseudomonas* sp. КТ1.311 обладает широкой субстратной специфичностью и способен использовать в качестве единственного источника углерода и энергии *орто*-фталевую кислоту (*орто*-ФК), а также такие ароматические соединения, как нафталин, бифенил, бензойную, *пара*-гидроксибензойную, протокатеховую, салициловую кислоты, толуол и дибутилфталат. На рисунке показана кривая роста штамма *Pseudomonas* sp. КТ1.311 на *орто*-ФК. Рост культуры на *орто*-ФК сопровождался непродолжительной лаг-фазой (5–6 часов). При этом оптическая плотность (ОП<sub>600</sub>) культуры достигла максимума (0.9–1.0 о.е.) к 90–96 часам.

В результате проведенных исследований было установлено, что штамм *Pseudomonas* sp. КТ1.311 эффективно рос на агаризованной богатой среде Раймонда [3] как без добавления NaCl, так и с содержанием соли до 70 г/л (7%). Рост штамма был зафиксирован при значениях pH 6.0–9.0. Проведенные генетические исследования показали, что в клетках штамма *Pseudomonas* sp. КТ1.311 присутствуют плазмиды небольшого размера (1–8 т.п.н.).

Таким образом, галотолерантный штамм *Pseudomonas* sp. КТ1.311 является активным деструктором фталатов (*орто*-ФК, дибутилфталата) и ряда других моно- и полиароматических углеводов. Всестороннее изучение штамма будет продолжено, т.к он может быть перспективным для использования при создании биотехнологий восстановления почв с высокой минерализацией и контаминацией токсичными ароматическими соединениями.

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: 01201353247.



Рост штамма *Pseudomonas* sp. КТ1.311 в жидкой минеральной среде с *орто*-фталевой кислотой (1 г/л).

### Библиографический список

1. Бачурин Б.А., Одинцова Т.А., Хохрякова Е.С. Углеводородные маркеры органического вещества солей Верхнекамского месторождения // Проблемы минералогии, петрографии и металлогении. Научные чтения памяти П.Н. Чирвинского: сб. науч. ст. Пермь, 2016. Вып. 19. С. 315–323.
2. Влияние техногенного засоления почвы на бактериальные сообщества ризосферы растений мятлика лугового (*Poa pratensis* L.) / А.В. Назаров и др. // Вестн. Перм. ун-та. Сер. Биология. 2017. Вып. 4. С. 435–440.
3. Розанова Е.П., Назина Т.Н. Углеводородокисляющие бактерии и их активность в нефтяных пластах // Микробиология, 1982. Т. 51. С. 324–348.

# АНАЛИЗ ФЛОРЫ ООПТ «АНДРОНОВСКИЙ ЛЕС» Г. ПЕРМЬ

Каракулова Ю.С.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., профессор Овеснов С.А.**

Определение стратегии сохранения биоразнообразия возможно только на основе изучения и инвентаризации природных комплексов и последующего мониторинга их состояния. Неотъемлемой частью мониторинга окружающей среды являются флористические исследования, поскольку состояние растительного покрова наиболее адекватно отражает степень сохранности всей биоты. Для разработки системы мер по сохранению биоразнообразия, прежде всего, необходима информация о его современном состоянии на той или иной территории. Поэтому первым этапом работ по охране биоразнообразия является его инвентаризация. В связи с этим, целью нашей работы была инвентаризация видового состава сосудистых растений охраняемой территории «Андроновский лес». Особо охраняемая природная территория (ООПТ) охраняемый ландшафт местного значения «Андроновский лес» образована решением Пермской городской думы № 167 в 2015 г. по предложению ряда специалистов кафедры биогеоценологии и охраны природы географического факультета ПГНИУ. Она относится к Черняевскому участковому лесничеству Пермского городского лесничества, занимая квартал № 15, общей площадью 89.45 га; по территории проложена экологическая тропа протяженностью около 2 км [1]. Находится она южнее микрорайона Нагорный в долине р. Мулянки и среди местного населения носит название «Андроновские горы». В летний период 2017–2018 гг. проведено полевое обследование биоразнообразия растений, результаты которого здесь излагаются. Большая часть покрыта лесной растительностью (86%), не покрыты лесной растительностью и относятся к фонду лесовосстановления 8%. Остальные площади являются нелесными землями и заняты водными объектами, автомобильными дорогами, тропами и т.п. [5].

Преобладают темнохвойные (пихтово-еловые) леса (кисличники, хвощевые, травяные). Светлохвойные (сосновые) леса представлены сосняками травяными и остепненными. Небольшие площади приходятся на мелколиственные (главным образом осиновые) травяные леса; ко дну лога приурочены сероольхово-ивовые заросли.

Из травяных сообществ отмечены суходольные разнотравно-злаковые и остепненные луга; крупнотравные с таволгой вязолистной и крупнозлаковые с лисохвостом низинные луга [6]. В результате проведенных исследований на территории ООПТ выявлено 288 видов сосудистых растений, относящихся к 186 родам и 60 семействам. Один вид (*Cephalanthera rubra* (L.) Rich.) занесен в Красные книги РФ [4] и Пермского края [3], два (*Cypripedium guttatum* Sw. и *Lilium pilosiusculum* (Freyn) Miscz.) – в Приложение к Красной книге Пермского края [3].

Экологический анализ флоры ООПТ «Андроновский лес» выявил, что доминирующей группой являются мезофиты – 222 вида (77,1% общего количества видов). Высокий процент содержания мезофитов на территории говорит о мезофильном характере флоры. Второй по численности группой являются гигрофиты – 28 видов (9,7%). Эта группа характерна для влажных местообитаний, встречающихся по берегам водоемов и болот. В ходе проведения анализа жизненных форм было отмечено преобладание гемикриптофитов – 157 вида (54,5 % общего количества видов). Можно сказать, что такой спектр характерен для умеренно-холодных континентальных лесных флор Голарктики. Географический анализ показал, что во флоре ООПТ «Андроновский лес» преобладают широкоареальные виды: палеарктические – 123 (50,2 %) и голарктические виды – 41 (16,7 %), евразийский – 40 (16,3%). Преобладание

этих географических элементов говорит о принадлежности к таежной зоне. Из 288 видов растений, отмеченных на ООПТ, нами было выявлено 37 адвентивных вида, часть из которых (*Acer negundo*, *Impatiens parviflora*, *Amelanchier spicata*, *Malus baccata* и др.) проявляет агрессивное поведение, активно внедряясь в природные сообщества, являясь инвазивными видами.

Для адвентивных видов был проведён анализ по времени и способу проникновения видов на территорию и по степени натурализации. Анализ по времени проникновения адвентивных видов показал, что преобладают кенофиты – 21 вид (56,7% общего количества адвентивных видов). К археофитам относятся 16 видов (43,3%). По степени натурализации выделяют несколько групп адвентивных растений: первая группа растений – агриофиты (27%), которые способны входить в состав естественных сообществ. Наиболее многочисленная группа – эпекофиты (56,7), адвентивные виды, которые встречаются в нарушенных местообитаниях. Третью группу по способу натурализации слагают эфемерофиты (13,6%) – виды, существующие на данной территории благодаря регулярному заносу их семян, но не проходящих полного жизненного цикла. И самую малочисленную группу составляют колонофиты (2,7%), виды, существующие только в местах своей культуры. По способу внедрения растений на территорию выделяют 2 основные группы: ксенофиты (непреднамеренно занесенные в результате человеческой деятельности) и эргазиофиты (виды, «сбежавшие» из культуры). В адвентивной флоре ООПТ «Андроновский лес» преобладают эргазиофиты – 20 видов, что составляет 54,1% от общего количества адвентивных видов. Доля ксенофитов составляет 48,6% (18 видов). Надо сказать, что на территории ООПТ высок процент синантропных видов, которых было отмечено 120. Количество синантропных видов составляет 41,6% от общего количества видов растений, произрастающих на данной территории, что говорит о высокой степени антропогенной трансформации фитоценозов ООПТ, что может привести к сокращению биоразнообразия охраняемого ландшафта.

#### Библиографический список

1. Андреев Д.Н., Козьминых В.О. Андроновский лес // Атлас особо охраняемых природных территорий Пермского края. Пермь: Астер, 2017. С. 38.
2. Иллюстрированный определитель растений Пермского края / под ред. С.А. Овеснова. Пермь: Кн. мир, 2007. 740 с.
3. Красная книга Пермского края / науч. ред. А.И. Шепель. Пермь: Кн. мир, 2008. 256 с.
4. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / гл. редкол.: Ю.П. Трутнев и др.; сост. Р.В. Камелин и др. М.: КМК, 2008. 866 с.
5. Михайлова О.В. ООПТ местного значения «Андроновский лес» // Экология города: состояние и охрана окружающей среды г. Перми. Пермь, 2015. С. 70–72.
6. Овеснов С.А., Молганова Н.А., Кремнев А.И. Биоразнообразие растений ООПТ «Андроновский лес» // Экология города: состояние и охрана окружающей среды г. Перми. Пермь, 2017. С. 57–59.

## АНАЛИЗ БИОГЕОГРАФИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ БАЗИДИОМИЦЕТА *SUILLUS SIBIRICUS*, ОБРАЗУЮЩЕГО ЭКТОМИКОРИЗУ С *PINUS SIBIRICA* DU TOUR, НА ОСНОВЕ СИКВЕНСОВ КЛАСТЕРА РИБСОМАЛЬНЫХ ГЕНОВ ДНК

Карбышева К.С., Мурина Е.А.

Томский государственный университет, г. Томск, Россия  
Научный руководитель: к.б.н. О.Б. Вайшля

Род *Suillus* (*Boletaceae*; *Basidiomycota*; *Agaricomycetes*) широко распространен в лесных экосистемах северного полушария, а его представители часто являются доминирующими

симбионтами деревьев-эдификаторов, таких, как представители семейства *Pinaceae*. Показано, что виды *Suillus*, образующие мутуалистические эктомикоризные ассоциации с *Pinus spp.*, более тесно связаны друг с другом, чем с видами *Suillus*, образующими эктомикоризу с *Larix spp.* [1]. Исследования филогении сосен выявили, что линии *Pinus* и *Strobilus* связаны с определенными видами рода *Suillus*. Из-за значительного сходства макро- и микро- признаков *Suillus sibiricus* часто путают с американским видом *S. americanus* [2]. Поэтому исследования филогенетических связей видов *Suillus spp.* являются актуальными.

Сбор образцов эктомикориз проводился с мая по сентябрь в 2016–2018 гг. в сосновом разнотравно-зеленомошном лесу (с. Тимирязево, Томская область). Для исследования отбирали живые, функционирующие эктомикоризы, которые фиксировали в 70% этаноле. Выделение ДНК проводили с использованием стандартного набора Quiagen согласно прилагаемому протоколу. Для амплификации и секвенирования кластера генов р-РНК использовали праймеры ITS-1F и ITS-4B [3]. Секвенирование осуществляли на анализаторе ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Идентификацию эктомикоризных грибов до родового и видового таксонов производили при помощи алгоритма BlastN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), с учетом установленного для ITS-регионов рибосомальных генов ДНК грибов нижнего порога 97–98% [4]. Отредактированные нуклеотидные последовательности длиной не менее 650 нкд были депонированы в GenBank.

Филогенетическое положение *S. sibiricus* было определено с помощью приложения MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis. Для этой цели было построено дерево с использованием последовательности кластера генов р-ДНК образцов *S. sibiricus* из Томска (МК402135), и 22 последовательностей, полученных из GenBank (*S. sibiricus* KU663191.1, KM882913.1, KX213819.1, KU663188.1, AF166512.1, KU663185.1 KX668173.1, KJ769305.1, KX213819.1; *S. americanus* KU663189.1, KM882913.1, KU663196.1, KX213755, KX213739.1, MK248044.1, KY706163.1, KX213773.1, KX230648.1, KU663182.1, KU663183.1, KU663184.1, KR025578.1, KX230612.1, MK575446.1). Все последовательности были выровнены с использованием приложения BioEdit Sequence Alignment Editor.

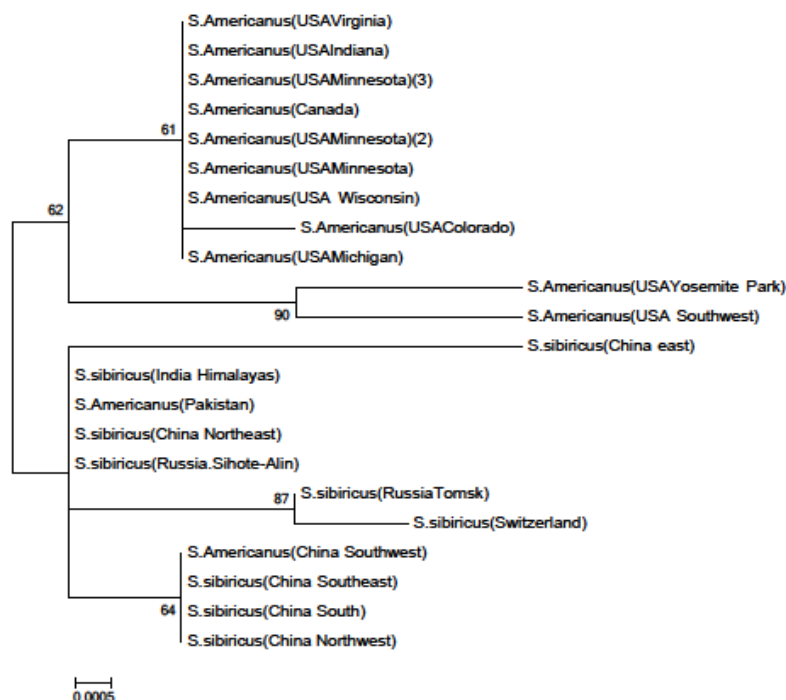


Рисунок. Филогенетическое дерево гаплотипов *Suillus sibiricus* и *S. americanus* по сиквенсам кластера рибосомальных генов ДНК.

Анализ генетических данных показал, что *S. americanus* из США и *S. sibiricus* из Азии формируют отдельные клады. Сибирский образец формирует хорошо поддерживаемую монофилетическую группу (87%) с европейским *S. sibiricus*, и входит в кладу азиатских образцов. Филогенетические деревья, построенные при помощи разных моделей с высокой долей достоверности указывают, что *S. americanus*, азиатский и европейский *S. sibiricus* формируют отдельные клады. Однако филогенетические связи между азиатскими *S. americanus* и *S. sibiricus* остались не определенными и требуют дальнейшего изучения (рисунок).

Считается, что род *Pinus* появился в меловом периоде, в нескольких крупных центрах: на северо-востоке США, в Японии, и в Западной Европе. Древние миграционные процессы с востока Северной Америки на запад Европы проходили довольно активно до разделения единого суперконтинента в Мезозое. Наиболее древний образец эктомикоризы, предположительно, *Pinus-Suillus*, датируется средним эоценом, около 50 млн. лет назад. Это означает, что симбиотические отношения между *Suillus* и *Pinus* были установлены в период, когда была возможна прямая миграция растений из Северной Америки через коридор в Беринговом проливе [5].

Тесная связь мутуалистических партнеров эктомикоризной ассоциации *Suillus-Pinus* позволяет предположить, что факторы, влияющие на пути миграции сосен, до сих пор являются одной из причин формирования и поддержания различных биогеографических клад в филогении эктомикоризообразующих макромицетов сюиллоидной группы.

#### Библиографический список

1. Kretzer A., Li Y., Szaro T., Bruns T.D. Internal transcribed spacer sequences from 38 recognized species of *Suillus* sensu lato: Phylogenetic and taxonomic implications // *Mycologia*. 1996. Vol. 88, Iss. 5. P. 776–785. DOI: 10.1080/00275514.1996.12026715
2. Wu Q-X., Mueller G.V., Lutzoni F.M. Phylogenetic and Biogeographic Relationships of Eastern Asian and Eastern North American Disjunct *Suillus* Species (Fungi) as Inferred // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2000. Vol. 17, № 1. P. 37–47.
3. Bruns T.D., Gardes M. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts // *Molecular ecology*. 1993. Vol. 2. Iss. 4. P. 233–242
4. Kõljalg U. et al. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi // *Molecular ecology*. 2013. Vol. 22, Iss. 21. P. 5271–5277.
5. Millar C.I. Impact of the Eocene on the Evolution of *Pinus* L. // *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 1993. Vol. 80, № 2. P. 471–498.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ *PPARG* И *ADRB1* У ДЗЮДОИСТОВ Г. ПЕРМИ

Кардакова В.М.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., проф. Боронникова С. В.**

Известно около 140 генов, полиморфизмы которых ассоциированы со спортивной деятельностью. С помощью молекулярно-генетического метода можно с большой вероятностью выделить генетические детерминанты, определяющие развитие каких-либо физических качеств, необходимых для успешной спортивной деятельности [1]. Согласно классификации, дзюдо является ациклическим видом спорта [2], который отличается широким спектром разноплановых физических нагрузок, где крайне важны такие качества

как скорость, сила, общая выносливость. Для формирования физического качества «скорость/сила» у дзюдоистов важно учитывать полиморфизм генов, отвечающих за регуляцию липидного обмена (*PPARG* — *peroxisome proliferator-activated receptors gamma*), а также определяющих функционирование сердечно-сосудистой системы (*ADRB1* — *adrenoceptor beta 1*). Цель исследования – определить аллельные варианты генов *PPARG* и *ADRB1* и на их основе с использованием общего генетического балла выявить генетическую предрасположенность к развитию физических качеств у дзюдоистов г. Перми, а также сравнить показатели ОГБ двух генов *PPARG* и *ADRB1* у дзюдоистов разной квалификации.

Образцы буккального эпителия ротовой полости собраны у 41 спортсмена, занимающегося дзюдо в МАУ «СШОР по дзюдо и самбо» г. Перми; все лица мужского пола в возрасте от 12 до 16 лет.

Для анализа взаимосвязи итогового показателя общего генетического балла со спортивной успешностью выборку разбили на 2 группы по 18 человек. «Группа I» с высокой квалификацией включала одного кандидата в мастера спорта (КМС), 11 спортсменов с первым юношеским разрядом и 6 спортсменов со вторым юношеским разрядом. «Группа II» с низкой квалификацией включала 8 человек с третьим юношеским разрядом и 10 человек, не имеющих разряда. ДНК выделяли сорбентным методом с помощью коммерческого набора «Проба ГС». Для амплификации фрагментов ДНК, содержащих полиморфные локусы, использовали соответствующую методику, взятую из литературных источников [3] для гена *PPARG*, [4] для гена *ADRB1*. Для разделения фрагментов ампликоны инкубировали вместе с эндонуклеазами рестрикции – *Bsh1236I* и *Eco0109I* для гена *PPARG* и *ADRB1*, соответственно. Продукты рестрикции генов *PPARG* и *ADRB1* фракционировали посредством электрофореза в 2% агарозном геле с последующей окраской бромистым этидием и фотографированием с помощью системы гель-документации Gel Doc XR в проходящем ультрафиолетовом свете. Для определения длины фрагментов использовали маркер молекулярной массы (50 bp +1.5 + 3 Kb DNA Ladder). Определение длин фрагментов проводилось с использованием программы Quantity One 4.6.2. Оценка генетической предрасположенности для развития качества «скорость/сила» на основании полученного генного профиля проводилась с помощью метода расчета «общего генетического балла или ОГБ» [5].

Аллельные варианты гена *PPARG* формируют 3 генотипа, среди которых гомозигота Ala/Ala, выявляемая по одному фрагменту ДНК длиной 257 п.н. У спортсменов с таким генотипом мышцы имеют высокую чувствительность к инсулину, который усиливает анаболическое действие на скелетные мышцы, благодаря чему этот генотип является наиболее благоприятным для развития скоростно-силовых качеств спортсменов. Гетерозиготе Ala/Pro соответствуют три фрагмента ДНК (257, 223 и 34 п.н.). У спортсменов с этим генотипом средняя чувствительность к инсулину, что приводит к снижению мышечной деятельности. Третий генотип Pro/Pro выявлен по наличию двух фрагментов ДНК (223 и 34 п.н.). Он ассоциируется с низкой физической работоспособностью, благодаря пониженной чувствительности к инсулину в медленных и в быстрых мышечных волокнах, относится к наименее благоприятному генотипу для проявления скоростно-силовых качеств. Анализ полиморфизма гена *PPARG* у 41 дзюдоиста выявил генотип Ala/Ala с частотой 0,71; Ala/Pro с частотой 0,29. Генотип Pro/Pro в исследуемой выборке дзюдоистов отсутствовал.

Аллельные варианты гена *ADRB1* формируют 3 генотипа, один из которых Gly/Gly. Для него характерны два фрагмента ДНК длиной 344 и 219 п.н. У спортсменов с этим генотипом отмечен стабильный сердечный ритм, благоприятствующий развитию скоростно-силовых качеств. Второй генотип Ser/Ser, при котором отмечается нарушение частоты и силы сердечных сокращений, повышение артериального давления. Этот генотип определяется по одному фрагменту ДНК длиной 564 п.н. и является наименее благоприятным к проявлению качества «скорость/сила». Третий генотип Ser/Gly с тремя аллелями (564, 344, 219 п.н.), является промежуточным по отношению к гомозиготам как

Gly/Gly, так и Ser/Ser. Анализ полиморфизма гена *ADRB1* у 41 дзюдоиста выявил генотип Gly/Gly с частотой 0,73; Ser/Gly с частотой 0,22; Ser/Ser с частотой 0,05.

Оценка генетической предрасположенности дзюдоистов разной квалификации на основании общего генетического балла по полиморфизму двух генов *PPARG* и *ADRB1*, контролирующих проявление скоростно-силовых качеств, показал, что в группе высокой квалификации преобладает максимальный ОГБ от 76 до 100 баллов с наивысшей частотой 0,67, по сравнению с группой дзюдоистов низкой квалификации (частота 0,33). Различия между группами в этом случае с использованием критерия Фишера значимы ( $F_{оп} 2,08 > F_{ст} 1,96$  при  $p = 0,05$ ). На основании общего генетического балла, определенного по результатам генотипирования двух групп спортсменов, установлено, что полиморфизм генов *PPARG* и *ADRB1* влияет на успешность занятий дзюдо.

Для каждого спортсмена были разработаны рекомендации по корректировке тренировочного процесса на основании молекулярно-генетического анализа полиморфных вариантов генов дзюдоистов и подсчета ОГБ.

### Библиографический список

1. Ахметов И.И. Молекулярная генетика спорта: состояние и перспективы // Педагогико-психологические и медико-биологические проблемы физической культуры и спорта. 2007. Т. 4, вып. 5. С. 87–103.
2. Матвеев Л.П. Основы общей теории спорта и системы подготовки спортсменов. Киев: Олимпийская литература, 1999. 318 с.
3. Do *PPARGC1A* and *PPARα* polymorphisms influence sprint or endurance phenotypes? / N. Eynon, Y. Meckel, M. Sagiv, C. Yamin // *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2010. Vol. 20(1). P. 145–150.
4. Conservation of the Cardiostimulant Effects of (–)-norepinephrine Across Ser49Gly and Gly389Arg Beta1-Adrenergic Receptor Polymorphisms in Human Right Atrium In Vitro / P. Molenaar, G. Rabnott, I. Yang, K.M. Fong // *Journal of the American College of Cardiology*. 2002. Vol. 40(7). P. 1275–1282.
5. Williams A.G., Folland J.P. Similarity of polygenic profiles limits the potential for elite human physical performance // *The Journal of Physiology*. 2008. Vol. 586(1). P. 113–121.

# АНАЛИЗ ФЛОРЫ ООПТ «ЛИПОГОРСКИЙ» (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

Кетова М.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

Научный руководитель: к.б.н., доцент Е. Г. Ефимик

Ботанический памятник природы «Липогорский», образованный в 2002 г., относится к ООПТ, имеющим региональный статус. Эта ООПТ образована для охраны ветреницы отогнутой (*Anemone reflexa* Steph.), занесенной в Красную книгу Пермского края и в настоящее время относящейся к III категории редкости [1].

ООПТ «Липогорский» находится в южной части Перми на полого-увалистой возвышенности. Его площадь составляет 41 га [2]. В соответствии с ботанико-географическим районированием Пермского края [3] ООПТ «Липогорский» относится к району широколиственно-елово-пихтовых лесов.

Целью настоящей работы являлось изучение биоразнообразия сосудистых растений ООПТ «Липогорский».

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Проведение геоботанических описаний и составление характеристики растительности.
2. Сбор и определение гербария, выявление флористического состава исследуемой территории и составление конспекта флоры.
3. Проведение систематического, биоморфологического, экологического и географического анализа флоры.
4. Проведение анализа адвентивной флоры.
5. Выявление редких и охраняемых растений на ООПТ.

Обследование территории и сбор материала проводились в 2017–2018 гг. За время исследования для изучения флористического состава территории было собрано 204 гербарных образца, для составления характеристики растительности были проведены геоботанические описания во всех фитоценозах ООПТ. Определение и монтировка гербария проводилась на кафедре ботаники и генетики растений ПГНИУ. Для установления видовой принадлежности собранного материала использовался «Иллюстрированный определитель растений Пермского края» [4].

В результате проведенных исследований была дана характеристика растительности и составлен конспект флоры ООПТ «Липогорский» [5, 6]. Всего на исследуемой территории нами было отмечено 287 видов сосудистых растений, относящихся к 179 родам и 56 семействам.

Основу флоры ООПТ составляют покрытосеменные растения. На их долю приходится 95,5% всех видов. Далее идут папоротники – 2,1% видов. На долю голосеменных приходится 1,1% видов, отдел хвощевидные включает 1,4% видов. Среди покрытосеменных растений преобладают представители класса двудольные – 77,7% видов от их общего количества.

Доминирующими семействами являются: *Asteraceae* – 33 вида, *Rosaceae* – 26 видов, *Roaceae* – 25 видов, *Fabaceae* – 19 видов, *Ranunculaceae* – 16 видов, что говорит о более южном характере флоры и ее принадлежности к хвойно-широколиственным лесам. Наибольшее число видов содержат следующие роды: *Carex* – 9 видов, *Salix* – 7 видов, *Potentilla*, *Ranunculus* и *Veronica* – по 6 видов. Состав преобладающих родов типичен для уральской флоры.

Экологический анализ флоры ООПТ «Липогорский» выявил, что доминирующей экологической группой являются мезофиты – 218 видов (78,4% от общего количества видов). Далее идут гигрофиты – 48 видов (16,7%). Доля остальных экологических групп (гидрофиты,



мезогигрофиты, гигромезофиты, ксеромезофиты, мезоксерофиты) составляет менее 5%. Высокий процент содержания мезофитов на территории говорит о мезофильном характере флоры. Гигрофиты связаны с водными местообитаниями в северо-западной части ООПТ.

При проведении анализа жизненных форм было вычислено, как распределены виды данной флоры по жизненным формам классификации К. Раункиера. Отмечено преобладание гемикриптофитов – 172 вида (55,84 % от общего количества видов), что указывает на умеренно-холодный голарктический характер флоры.

Географический анализ показал, что во флоре ООПТ «Липогорский» преобладают широкоареальные виды: палеарктические виды – 44 (19,6%) и голарктические – 41 (18,3%). Преобладание этих географических элементов говорит о принадлежности к таежной зоне. Значительна доля и неморальных видов: западнопалеарктических – 35 (15,6%), европейских – 8 (3,5%), что объясняется расположением ООПТ в ботанико-географическом районе широколиственно-елово-пихтовых лесов.

Из 287 видов растений, отмеченных на ООПТ, нами было выявлено 63 адвентивных вида. Для них был проведён анализ по времени и способу проникновения видов на территорию и по степени натурализации. Анализ по времени проникновения адвентивных видов показал, что преобладают неофиты – 39 видов (61,9% от общего количества адвентивных видов). К археофитам относятся 24 вида (38,1%). По степени натурализации выделяют несколько групп адвентивных растений: эфемерофиты (9,5%) – виды, существующие на данной территории благодаря регулярному заносу их семян, но не проходящих полного жизненного цикла; эпекофиты (61,9%), которые встречаются в нарушенных местообитаниях; агриофиты (28,6%), которые способны внедряться в состав естественных сообществ.

По способу внедрения растений на территорию выделяют 2 основные группы: ксенофиты (непреднамеренно занесенные в результате человеческой деятельности) и эргазиофиты (виды, «сбежавшие» из культуры). В адвентивной флоре ООПТ «Липогорский» преобладают ксенофиты – 44 вида, что составляет 69,8% от общего количества адвентивных видов. Доля эргазиофитов составляет 30,2% (19 видов).

Надо сказать, что на территории ООПТ высок процент синантропных видов, которых было отмечено 131. Количество синантропных видов составляет 45,6% от общего количества видов растений, произрастающих на данной территории, что говорит о высокой степени антропогенной трансформации фитоценозов ООПТ.

На территории ботанического памятника природы произрастает 4 редких и охраняемых вида растений: ветреница отогнутая (*Anemone reflexa* Steph.) включена в Красную книгу Пермского края; дуб черешчатый (*Quercus robur* L.), любка двулистная (*Platanthera bifolia* (L.) Rich.) и пальчатокоренник мясо-красный (*Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo), включенные в Приложение к Красной книге Пермского края [1]. Любка двулистная и пальчатокоренник мясо-красный для территории ООПТ «Липогорский» отмечены впервые.

### Библиографический список

1. Красная книга Пермского края / под общ. ред. М.А. Бакланова. Пермь: Алдари, 2018. 232 с.
2. Атлас особо охраняемых природных территорий Пермского края / под ред. С.А. Бузмакова. Пермь: Астер, 2017. 446 с.
3. Овеснов С.А. Местная флора. Флора Пермского края и её анализ: учеб. пособие по спецкурсу. Пермь, 2009. 215 с.
4. Иллюстрированный определитель растений Пермского края / С.А. Овеснов, Е.Г. Ефимик, Т.В. Козьминых и др. / под ред. С.А. Овеснова. Пермь: Кн. мир, 2007. 743 с.
5. Ефимик Е.Г., Кетова М.В. Конспект флоры ООПТ «Липогорский» / Вестн. Перм. ун-та. Сер. Биология. 2018. Вып. 4. С. 351–357.
6. Ефимик Е.Г., Кетова М.В. Ботаническая характеристика ООПТ «Липогорский» (г. Пермь) // Антропогенная трансформация природной среды. Пермь, 2018. Вып. 3. С. 55–57.

# БИОРАЗНООБРАЗИЕ РАСТЕНИЙ ООПТ «БУЖДОМСКИЙ ЕЛЬНИК»

Ковыляева Е.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: профессор, д.б.н., Овеснов С.А.**

Одной из важнейших форм сохранения биоразнообразия является создание особо охраняемых природных территорий (ООПТ). Однако, на сегодняшний день, биоразнообразие охраняемых территорий Пермского края, в том числе и ООПТ «Буждомский ельник», выявлено далеко не полностью. В связи с этим появляется необходимость изучения биоразнообразия растений на данной территории.

«Буждомский ельник» – это охраняемый природный ландшафт регионального значения. Был создан 28.04.1981 г. с целью обеспечения охраны природных комплексов и поддержания экологического баланса при сохранении экономического потенциала региона и образа жизни населения, с регулярным традиционным использованием. На территории охраняемого ландшафта обеспечивается сохранение местообитания особой формы финской ели (*Picea fennica*), которая отличается от ели сибирской (*Picea obovata*) более длинной хвоей и более крупными шишками. Ель финская (*Picea fennica*) здесь находится на восточной границе своего ареала.

Ельник расположен на территории Кудымкарского муниципального района Пермского края в 2 км восточнее д. Москвина, в границах кварталов 131, 132 Кувинского лесничества и 21, 22 Верх-Иньвенского лесничества Кудымкарского района. Общая площадь территории составляет 932 га.

Исследования на территории ООПТ проводились в 60–80-х гг. прошлого века. Согласно данным этих исследований, экосистемы представлены смешанными хвойно-мелколиственными лесами, зарастающими вырубками. Почвы на территории ООПТ дерново-сильнопodzольные. В результате этих исследований Пермский облисполком утвердил к охране Буждомский ельник в качестве лесного памятника природы всесоюзного значения. В границах охраняемого ландшафта было выявлено местообитание любки двулистной (*Platanthera bifolia*), которая включена в Приложение к Красной книге Пермского края [1]. Однако, список видов растений, произрастающих на данной территории, найти не удалось.

При исследовании в 2010 г. на территории охраняемого ландшафта было найдено 26 видов растений и выявлен такой фитоценоз, как ельник кисличник. Древесный ярус представлен елью финской (*Picea fennica*), и в меньшей степени березой повислой (*Betula pendula*), единично в древостое также встречается осина (*Populus tremula*). В подросте встречаются ель финская (*Picea fennica*), береза повислая (*Betula pendula*), рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia*) и черемуха обыкновенная (*Padus avium*). Кустарниковый ярус отсутствует. В травянисто-кустарничковом ярусе преобладают такие травы: кислица обыкновенная (*Oxalis acetosella*) и линнея северная (*Linnea borealis*). В мохово-лишайниковом ярусе доминирует плевроциум Шребера (*Pleurozium shreberi*). Синантропные виды в фитоценозе не выявлены. Отмечена нулевая степень деградации растительного покрова [2].

В период с июня по август 2018 г. нами было изучено биоразнообразие ООПТ «Буждомский ельник». Было собрано 289 гербарных образцов на 9 пробных площадях. Всего на территории охраняемого ландшафта обнаружено 114 видов высших растений, относящихся к 83 родам, 45 семействам и 5 отделам: *Equisetophyta* (1 вид, 0,9 %), *Polypodiophyta* (3 вида, 2,6 %), *Pinophyta* (4 вида 3,5%), *Magnoliophyta* (98 видов, 86 %), *Bryophyta* (8 видов 7,0 %).

Ведущими семействами являются *Rosaceae* (10 видов, 8,8%), *Poaceae* (9 видов, 7,9%), *Asteraceae* (7 видов, 6,1%), *Ranunculaceae* (6 видов, 5,3%), *Fabaceae* (6 видов, 5,3%). Многие семейства растений на изучаемой территории представлены всего одним видом: *Sphagnaceae*, *Polytrichaceae*, *Dicranaceae*, *Valerianaceae*, *Plantaginaceae*, *Primulaceae*, *Onagraceae*, *Hypericaceae*, *Oxalidaceae*, *Brassicaceae*, *Aristolochiaceae*, *Betulaceae*, *Orchidaceae*, *Juncaceae*, *Cupressaceae*, *Dryopteridaceae*, *Equisetaceae* и др.

Кроме ели финской (*Picea fennica*), охраняемой на территории ООПТ «Буждомский ельник», и любки двулистной (*Platanthera bifolia*), включенной в Приложение к Красной книге Пермского края, охраняемых видов не найдено.

Среди обнаруженных растений 1 вид (0,9%) относится к адвентивным (*Cirsium vulgare*) [5]. Также во флоре ООПТ было отмечено 36 видов растений, относящихся к синантропным (31,6%): ива козья (*Salix caprea*), смолевка поникшая (*Silene nutans*), иван-чай узколистный (*Chamaenerion angustifolium*), подорожник большой (*Plantago major*) и др. [4].

Высокий процент синантропных видов, вероятно, связан с активной хозяйственной деятельностью населения на данной территории еще до создания ООПТ. В охраняемом ландшафте обнаружены зарастающие вырубki, зарастающая лесная дорога. На сегодняшний день антропогенное воздействие на экосистемы ельника незначительное.

Экологический анализ флоры по отношению к водному режиму показал, что растения произрастают в условиях разных показателей увлажнения. Однако, прослеживается явное преобладание мезофитной флоры. На долю мезофитов приходится 70,2% (80 видов), ксеромезофитов 2,6% (3 вида), гигромезофитов 2,6% (3 вида). Меньшее число видов относится к гигрофитному типу флоры. На долю гигрофитов приходится 17,5% (20 видов), психрогигрофитов 0,9% (1 вид), мезогигрофитов 1,7% (2 вида).

Анализ флоры по отношению видов к световому фактору показал, что в ельнике доминируют светолубивые виды 40,4% (46 видов), к факультативным гелиофитам относится 32,4% (37 видов), а к сциофитам 27,2% (31 вид).

Таким образом, на территории ООПТ определено 114 видов высших растений, что является довольно высоким показателем видового разнообразия для ельника. Также проведен систематический и экологический анализ растений.

#### **Библиографический список**

1. Атлас особо охраняемых природных территорий Пермского края / под ред. С.А. Бузмакова. Пермь: Астер, 2017. 512 с.
2. Бессонова Д.Д. Оценка современного состояния растительного покрова ООПТ регионального значения «Буждомский ельник» и «Кувинский бор» Кудымкарского района // Особо охраняемые природные территории в жизни региона. Материалы Межрегион. конф. Пермь. 2011. С. 244–248.
3. Иллюстрированный определитель растений Пермского края / под ред. С.А. Овеснова. Пермь: Кн. мир, 2007. 743 с.
4. Третьякова А.С., Мухин В.А. Синантропная флора Среднего Урала. Екатеринбург: Екатеринбург, 2001. 148 с.
5. Туганаев В.В., Пузырев А.Н. Гемерофиты Вятско-Камского междуречья. Свердловск, 1988. 128 с.

# ПЕРВЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ КРИПТОФИТОВЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ ПЕРМСКОГО КРАЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Мартыненко Н.А.<sup>1,2</sup>, Боронникова С.В.<sup>1</sup>, Гусев Е.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва, Россия

Криптофитовые водоросли (класс Cryptophyceae) представляют собой обособленную эволюционную группу сравнительно небольших разножгутиковых организмов, встречающихся в пресноводных, солоноватоводных и морских экосистемах. Известно более 20 родов и около 200 видов криптонад, однако реальное разнообразие группы недооценено и, вероятно, гораздо выше [1]. Одним из интересных отличий данной группы является наличие в пластиде так называемого нуклеоморфа – редуцированного ядра, содержащего генетическую информацию первичного эндосимбионта. Традиционно систематика криптофитовых водорослей основывалась на морфологических отличиях в структуре перипласта, месте ядра в клетке, жгутиковом аппарате, борозде, глотке, а также типе билипротеина. В настоящее время использование молекулярно-генетических методов выявило несоответствие между молекулярными данными и существующей системой криптонад. Так, молекулярно-генетические исследования позволили уточнить и выявить новые идентификационные характеристики для 12 видов и описать 2 новых вида рода *Cryptomonas* Ehrenb. из почти 100 валидно описанных таксонов [2]. В этих же исследованиях было выявлено, что существуют таксоны, не отличающиеся морфологически, но которые можно определить молекулярно-генетическими методами. В России основная информация об этой группе организмов содержится в работах, посвящённых фитопланктону, а специализированные исследования очень немногочисленны.

В альгофлоре Пермского края криптонады изучены слабо. Данные организмы, чаще всего, не вносят большого вклада в структуру сообществ. Исключением стали 1985 и 2008 гг., когда значительная роль в формировании планктонных сообществ Камского водохранилища принадлежала криптофитовым водорослям: *Chroomonas acuta* Uterm., *Cryptomonas marssonii* Skuja и *C. ovata* Ehrenb. [3]. В таксономическом списке криптофитовых водорослей помимо вышеперечисленных видов идентифицированы также *Chroomonas* sp. и *Cryptomonas erosa* Ehrenb. [4].

Во флоре Воткинского водохранилища криптофитовые водоросли встречаются единично. Их разнообразие минимально в весенний период, в оставшийся вегетационный сезон оно увеличивается. Максимальной численности достигает *C. ovata*, также в данном водоёме зарегистрированы *Ch. acuta* и *C. marssonii* [5].

Специализированное изучение криптонад из водных объектов Пермского края было начато в 2015 г. Материал был отобран в пойме р. Усолки в черте г. Соликамска, а также в болоте вблизи этого города. Из природной пробы были изолированы клетки и выделены в культуру. После накопления достаточной биомассы из моноклональных штаммов криптофитовых водорослей была выделена геномная ДНК с помощью коммерческого набора InstaGene Matrix («BioRad», USA). Для филогенетического анализа были использованы регионы ядерной ДНК: консервативный кодирующий фрагмент большой рибосомальной субъединицы (28S рРНК), а также варибельный регион, содержащий 3'-область внутреннего транскрибируемого спейсера 1 (ITS1), ген 5.8S рРНК, внутренний транскрибируемый спейсер 2 (ITS2) и 5'-область гена 28S рРНК, широко используемые для выяснения филогенетической связей у эукариот и, в частности, у криптонад. Для сравнения полученных нуклеотидных последовательностей из базы данных GenBank были

взяты последовательности других представителей Cryptophyceae. Филогенетическое древо было построено методом максимального правдоподобия (maximum likelihood; ML). Для вычисления статистических поддержек узлов ветвления древа был использован метод бутстрепа с 1000 репликациями.

В результате проделанных работ было получено 4 моноклональных штамма криптофитовых водорослей. Из водоёма в пойме р. Усолки изолированы штаммы UR 167, UR 168 и UR 169. Их последовательности 28S рРНК и участок ITS1, 5.8S рРНК и ITS2 идентичны. Из болота вблизи г. Соликамска изолирован штамм R 231. Все перечисленные изоляты принадлежали к роду *Cryptomonas*.

На филогенетическом древе, построенном при анализе 28S рРНК, данные штаммы формируют отдельные кластеры с высокими величинами бутстрепа. Клада, образованная штаммами UR 167, UR 168 и UR 169, не входила ни в один из кластеров, образованных последовательностями других видов. Данные штаммы формировали отдельную кладу, обозначенную нами как *C. uralensis* sp. nov., объединявшуюся с *C. tetrapyrenoidosa* Skuja emend. Hoef-Emden et Melkonian в отдельный кластер с высокой поддержкой бутстрепа (95). На данном филогенетическом древе штамм R 231 объединяется с кладой, образованной штаммами *C. erosa* Ehrenb. и штаммами *Cryptomonas* sp. M2089 и *Cryptomonas* sp. M1634 при высоких значениях бутстрепа.

На филогенетическом древе, построенном на основании более варибельного региона, содержащего 3'-область ITS1, 5.8S рРНК, ITS2 и 5'-область 28S рРНК, порядок ветвления для исследованных штаммов остаётся тем же. Таким образом, обнаруженные штаммы представляют 2 таксона видового уровня, новые для науки. Это подтверждает и анализ вторичной структуры ITS2.

*Работа выполнена при поддержке проекта РФФИ 18-04-01280.*

#### **Библиографический список**

1. Hoef-Emden K., Marin V., Melkonian M. Nuclear and nucleomorph SSU rDNA phylogeny in the Cryptophyta and the evolution of cryptophyte diversity // Journal of molecular evolution. 2002. Vol. 55, № 2. P. 161–179.
2. Hoef-Emden K., Melkonian M. Revision of the genus *Cryptomonas* (Cryptophyceae): a combination of molecular phylogeny and morphology provides insights into a long-hidden dimorphism // Protist. 2003. Vol. 154, № 3–4. P. 371–409.
3. Третьякова С.А. Фитопланктон Камских водохранилищ // Гидробиологическая характеристика водоемов Урала. Свердловск, 1989. С. 58–69.
4. Беляева П.Г. Пространственно-временные изменения фитопланктона Камского водохранилища // Известия Самарского научного центра РАН. 2015. Т. 17, № 4 (4). С. 733–738.
5. Третьякова С.А., Головачева С.И., Батова Е.М. Фитопланктон // Биология Воткинского водохранилища. Иркутск, 1988. С. 26–36.

## **ГУСТОТА МИКРОЦЕНОЗОВ СОСНЫ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА НАПОЧВЕННЫЙ ПОКРОВ**

Меркулов А.Д.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н. Rogozin M.B.**

В структуре древостоев микроценозы играют важную роль во внутри- и межвидовых взаимодействиях между деревьями и растениями, и для их изучения применяют

разнообразные методы пространственного анализа [1, 2]. В настоящей работе использован наиболее простой метод выделения микроценозов с механическим делением территории на площадки размером 10×10 м. Такие «механические» микроценозы лишены внешней физиономичности и выхвачены из структуры связей с соседями [1], однако при таком их выделении полностью исключен субъективный фактор, что немаловажно.

Для ботанического описания напочвенного покрова в данной работе использовали миниплощадки размером 3×3,3 м, которые закладывали в центрах площадок 10×10 м.

Цель данной работы – выяснить количественные значения силы влияния фактора густоты микроценозов сосны на число и частоту встречаемости видов растений напочвенного покрова.

Объект и методика работ – 184-летнее насаждение сосны 1 класса бонитета на площади 2.16 га с полнотой 0.93, тип леса сосняк чернично-кисличниковый. Всего было измерено 735 деревьев. План был оцифрован в программе ArcMap-ArcView и механически разбит на 216 ячеек (микроценозов) размером 10×10 м. При ботаническом описании растительности использовали методы полевых экологических исследований [3, 4] с использованием коротких трансект длиной до 180 м, которые названы здесь «треками». В данном массиве сосны проложены два трека под номерами 3 и 4. На каждом строго через 10 м и в центре площадок 10×10 м закладывали микроплощадки 3×3,3 м, где проводили описание растительности. Была принята следующая градуировка частот встречаемости растений в баллах: 1 – единично, 2 – от 5 до 10 шт., 3 – 11–30 шт., 4 – 31–50 шт., 5 – более 50 шт. Для мхов глазомерно определяли покрытие поверхности: 1 – до 10%; 2 – 11–25%; 3 – 26–50%; 4 – 51–80%; 5 – более 80%.

#### Анализ результатов

Влияние яруса сосны на обилие видов изучали по двум показателям заполнения пространства деревьями: первый по числу деревьев на площадке 0.01 га и второй по сумме площадей сечения стволов на высоте 1.3 м, которое в среднем по массиву сосны составило 0.442 м<sup>2</sup> на 1 площадку. На диаграммах связей двух данных показателей яруса сосны с ярусом напочвенного покрова показатели аппроксимаций трендов R<sup>2</sup> оказались равны 0.306 и 0.298. Это показывает, что число видов растений в напочвенном покрове обусловлено густотой яруса сосны на 30.6%, а таксационная полнота, выраженная в виде суммы площадей сечения деревьев, влияет с силой 29.8%. Эти оценки показывают, что сила влияния плотности верхнего яруса древостоя на число видов растений напочвенного покрова равна в среднем 30.2%. По своему уровню это средняя сила влияния, при которой наибольшее число видов растений (7–13) встречается при снижении густоты верхнего яруса до 0–3 шт. деревьев на площадке 0.01 га, что оказывается ниже средней густоты.

Далее была рассчитана средняя частота встречаемости растений и проективное покрытие моховым покровом на треках 3 и 4 (рисунок).

Доминирующими видами на обоих треках являются 6 видов со средней частотой встречаемости более 1 балла: брусника, земляника лесная, костяника, осока пальчатая, черника, плевроциум Шребера. Для оценки сходства частот встречаемости видов на треках можно использовать их корреляцию, размещая частоты для трека 3 по горизонтальной, а для трека 4 – по вертикальной оси точечной диаграммы. Оказалось, что на такой диаграмме, если растения встречались на одном треке с частотой выше 1 балла (от 11 шт. растений и более), то на другом треке их частота также оказывается достаточно высокой. Однако встретились и исключения: седмичник европейский (№ 18, см. рисунок) на треке 3 не встречался, тогда как на треке 4 его встречаемость оказалась на уровне 1.9 балла.

Для частот встречаемости растений на треках 3 и 4 их взаимная корреляция оказалась достаточно сильной и равной  $r = 0.71 \pm 0.09$ . Показатель достоверности аппроксимации тренда этой связи  $R^2 = 0.510$  показал, что частота встречаемости видов на одном треке обуславливает их частоту на другом на 51%, что можно считать высоким значением.

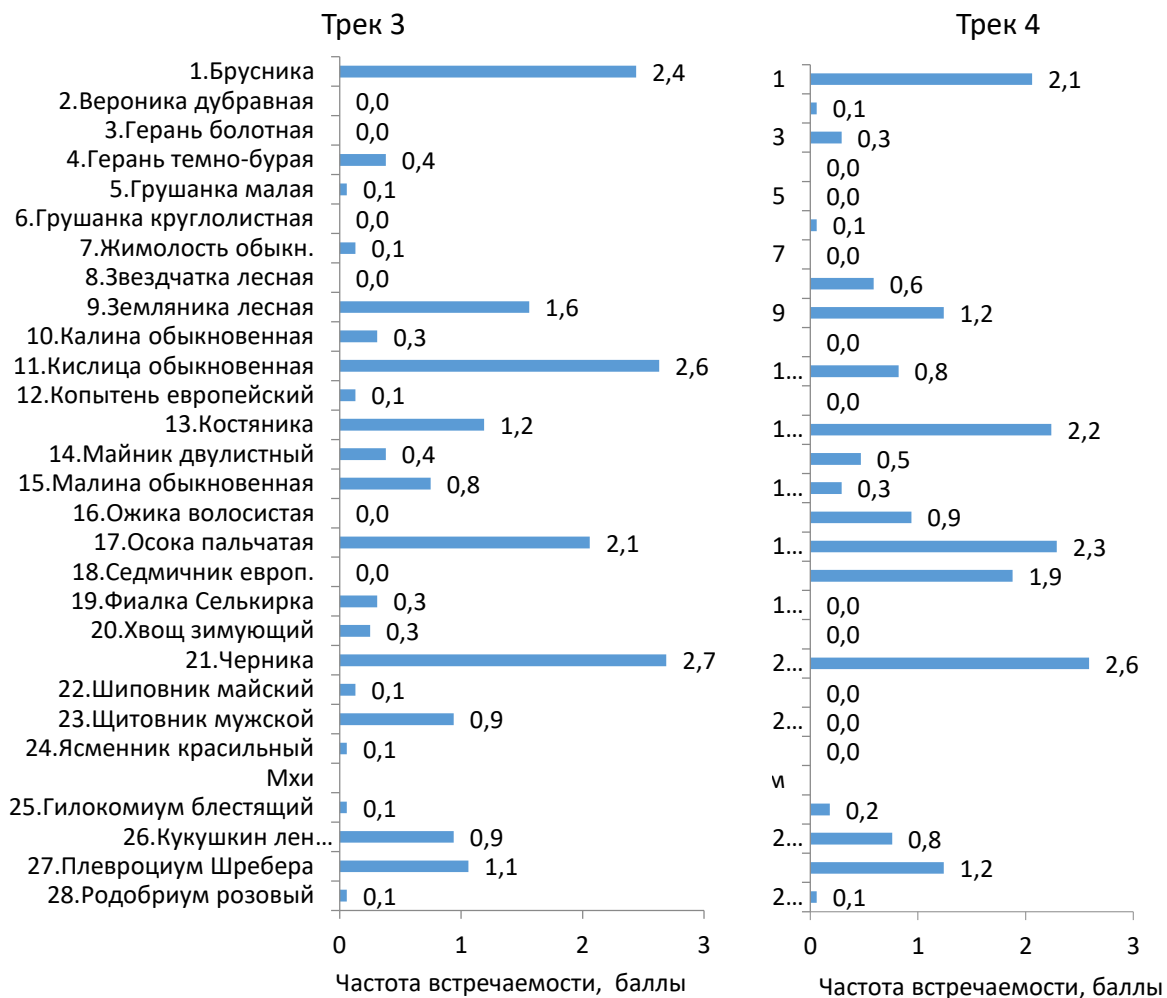


Рисунок. Средняя частота встречаемости растений в баллах для видов растений напочвенного покрова на треках 3 и 4 в сосняке чернично-кисличниковом

### Выводы

1. Наибольшее число видов растений в напочвенном покрове (7–13 шт.) встречается при снижении густоты яруса сосны до 0–3 шт. деревьев на площадках размером 10×10 м, т.е. ниже средней густоты; при этом сила влияния густоты и таксационной полноты яруса сосны на число видов растений составляет в среднем 30.2% .

2. Частота встречаемости каждого из видов растений на одном треке обуславливает частоты их встречаемости на другом треке на 51%, что позволяет считать части насаждения, где они заложены, достаточно однородными по видовому составу растений.

### Библиографический список

1. Вайс А.А. Научные основы оценки горизонтальной структуры древостоев для повышения их устойчивости и продуктивности (на примере насаждений Западной и Восточной Сибири): Автореф. дис. .... д-ра с.-х.наук. Красноярск, 2014. 33 с.
2. Борисов А.Н., Иванов В.В., Петренко А.Е. Оценка реакции соснового древостоя Красноярской лесостепи на рубку ухода // Лесоведение. 2014. № 4. С. 22–27.
3. Артаев О.Н. Башмаков Д.И., Безина О.В. и др. Методы полевых экологических исследований: учеб. пособие. Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2014. 412 с.
4. Пилипко Е.Н. Методология исследований лесных экосистем: метод. пособие. Вологда; Молочное: ИЦ ВГМХА, 2013. 103 с.

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *P. SYLVESTRIS* L. В КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ И ПЕРМСКОМ КРАЕ

Нассонова Е.С.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

Научный руководитель: к.б.н., доцент Васильева Ю.С.

Изучение внутривидового генетического разнообразия и популяционной структуры основных лесообразующих видов крайне важно для обоснования долгосрочных программ не истощительного пользования лесными биологическими ресурсами и воспроизводства их генофондов при выполнении селекционных и лесовосстановительных мероприятий [1]. В современный период широкое распространение получило такое преступление, как незаконная рубка лесных насаждений. Неконтролируемая вырубка лесов приводит к уничтожению среды обитания живых организмов, эрозии почв, а в глобальном масштабе – к изменению климата [2]. Ущерб, причиненный незаконной вырубкой, порой может достигать нескольких миллионов рублей. Следовательно, необходима разработка мер выявления и контроля незаконных рубок, а также идентификации древесных видов растений на популяционном уровне [3]. Целью данной работы является молекулярно-генетическая идентификация некоторых популяций *Pinus sylvestris* L. в Кировской области и Пермском крае.

Для исследования были отобраны семь выборок сосны обыкновенной, три из которых расположены на территории Пермского края (**PsI**, **PsII**, **PsIII**), и четыре выборки – на территории Кировской области (**PsIV**, **PsV**, **PsVI**, **PsVII**). Для проведения молекулярно-генетического анализа в каждой из семи выборок у *P. sylvestris* собрана хвоя индивидуально с 28–30 деревьев, расположенных не менее, чем в 50 метрах друг от друга. Для выделения ДНК из хвои использовали методику С. Роджерса с соавторами [4]. Навеска растительного материала составляла 100 мг. Для молекулярно-генетического анализа был избран ISSR-метод (Inter Simple Sequence Repeats) анализа полиморфизма ДНК [5]. Амплификацию проводили по типичной для ISSR-метода программе. Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 2% агарозном геле. Молекулярно-генетическая идентификация проведена по методике С.В. Боронниковой [6]. Анализ генетической структуры и дифференциации изученных выборок проведен в программах Treecon1.3b и STRUCTURE2.3.4.

Для изучения генетической изменчивости и молекулярно-генетической идентификации *P. sylvestris* проанализирован полиморфизм у 204 деревьев с 5 ISSR-праймерами, всего амплифицировано 1020 ПЦП-проб. При молекулярно-генетическом анализе пяти популяций *P. sylvestris* выявлено 134 ISSR-маркеров, из которых 125 были полиморфными, то есть доля полиморфных локусов ( $P_{95}$ ) составила 0,933. Установлено, что доля полиморфных локусов выше в популяции **PsII** ( $P_{95}=0,951$ ), ниже в **PsVI** ( $P_{95}=0,782$ ).

На основе ISSR-спектров для каждой изученной выборки отобраны идентификационные маркеры, представленные в виде молекулярно-генетической формулы, установлены их сочетания в выборках. При составлении молекулярно-генетической формулы использовались «видовые» (vid) ISSR-маркеры, присутствующие у всех особей данного вида. Для изученных популяций *P. sylvestris* установлены четыре видовых ISSR-маркера:  $PS_{v540M27}$ ;  $PS_{v500M27}$ ;  $PS_{v460M27}$ ;  $PS_{v330CR215.B}$  в изученных выборках *P. sylvestris* выявлено 9 уникальных ISSR-маркеров, из которых в выборках **PsI**, **PsII**, **PsV**, **PsVI** выявлено по 1 уникальному ISSR-маркеру, в выборке **PsIII** – 5, а в выборках **PsIV** и **PsVII** таких ISSR-маркеров выявлено не было. При идентификации выборок, для которых не были



установлены уникальные маркеры, использовались сочетания идентификационных полиморфных маркеров (таблица).

При исследовании генетической дифференциации изученных выборок установлено, что они образуют четыре кластера с высокой поддержкой бутстрепа. Для подтверждения этого и исследования соответствия между кластерами генотипов и группами выборок применялась программа STRUCTURE 2.3.4. В результате наиболее вероятным также оказывается разделение исследуемой выборки на 4 генетические популяции (рисунок). По результатам проведенных исследований планируется провести идентификацию на популяционном уровне с учетом выявленных генетических кластеров.

Таким образом, проведена молекулярно-генетическая идентификация изученных выборок сосны обыкновенной, составлены молекулярно-генетические формулы. У изученных выборок *P. sylvestris* установлены четыре видовых ISSR-маркера. Для каждой из семи исследованных выборок *P. sylvestris* установлены уникальные «полиморфные» идентификационные маркеры и их сочетания. Анализ структуры и распределения генотипов в выборках показал, что наиболее вероятным оказывается подразделение их на 4 генетических кластера, которые, вероятно, соответствуют 4 генетическим популяциям, при этом наиболее генетически близкими оказываются выборки **PsI** и **PsII**, **PsIV** и **PsV**, а также **PsVI** и **PsVII**, в отдельный кластер выделилась выборка **PsIII**.

Таблица

Молекулярно-генетическая формулы семи выборок *Pinus sylvestris*

Популяция	Тип маркера	Молекулярно-генетическая формула
<b>PsI</b>	rod	PIN <sub>r</sub> 250 <sub>CR-215</sub> ;
	vid	PS <sub>v</sub> 540 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 500 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 460 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 330 <sub>CR215</sub> ;
	polimorph	PsI <sub>p</sub> 720 <sub>ISSR-1</sub> ; PsI <sub>p</sub> 700 <sub>ISSR-1</sub> ; PsI <sub>p</sub> 320 <sub>ISSR-1</sub> ; PsI <sub>p</sub> 300 <sub>ISSR-1</sub> ; PsI <sub>p</sub> 510 <sub>CR212</sub> ; PsI <sub>p</sub> 500 <sub>CR212</sub> ; PsI <sub>p</sub> 320 <sub>CR215</sub> ; PsI <sub>p</sub> 240 <sub>X10</sub> ;
<b>PsII</b>	rod	PIN <sub>r</sub> 250 <sub>CR-215</sub> ;
	vid	PS <sub>v</sub> 540 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 500 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 460 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 330 <sub>CR215</sub> ;
	polimorph	PsII <sub>p</sub> 810 <sub>CR215</sub> ; PsII <sub>p</sub> 700 <sub>CR215</sub> ;
<b>PsIII</b>	rod	PIN <sub>r</sub> 250 <sub>CR-215</sub> ;
	vid	PS <sub>v</sub> 540 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 500 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 460 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 330 <sub>CR215</sub> ;
	polimorph	PsIII <sub>p</sub> 980 <sub>ISSR-1</sub> ; PsIII <sub>p</sub> 900 <sub>ISSR-1</sub> ; PsIII <sub>p</sub> 440 <sub>CR212</sub> ; PsIII <sub>p</sub> 420 <sub>CR212</sub> ; PsIII <sub>p</sub> 730 <sub>M27</sub> ; PsIII <sub>p</sub> 680 <sub>M27</sub> ; PsIII <sub>p</sub> 880 <sub>X10</sub> ; PsIII <sub>p</sub> 600 <sub>X10</sub> ; PsIII <sub>p</sub> 580 <sub>X10</sub> ; PsIII <sub>p</sub> 460 <sub>X10</sub> ;
<b>PsIV</b>	rod	PIN <sub>r</sub> 250 <sub>CR-215</sub> ;
	vid	PS <sub>v</sub> 540 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 500 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 460 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 330 <sub>CR215</sub> ;
	polimorph	PsIV <sub>p</sub> 400 <sub>CR212</sub> ; PsIV <sub>p</sub> 420 <sub>CR212</sub> ;
<b>PsV</b>	rod	PIN <sub>r</sub> 250 <sub>CR-215</sub> ;
	vid	PS <sub>v</sub> 540 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 500 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 460 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 330 <sub>CR215</sub> ;
	polimorph	PsV <sub>p</sub> 1260 <sub>CR212</sub> ;
<b>PsVI</b>	rod	PIN <sub>r</sub> 250 <sub>CR-215</sub> ;
	vid	PS <sub>v</sub> 540 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 500 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 460 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 330 <sub>CR215</sub> ;
	polimorph	PsVI <sub>p</sub> 420 <sub>CR212</sub> ;
<b>PsVII</b>	rod	PIN <sub>r</sub> 250 <sub>CR-215</sub> ;
	vid	PS <sub>v</sub> 540 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 500 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 460 <sub>M27</sub> ; PS <sub>v</sub> 330 <sub>CR215</sub> ;
	polimorph	PsVII <sub>p</sub> 800 <sub>M27</sub> ; PsVII <sub>p</sub> 840 <sub>M27</sub> .

Примечание. **PsI –PsVII** – обозначения выборок; rod – родовые ISSR-маркеры; vid – видовые ISSR-маркеры; polymorph – полиморфные ISSR-маркеры.

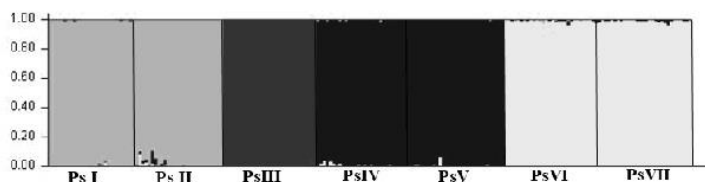


Рисунок. Генетическая структура исследованных выборок *P. sylvestris* при  $K=4$ ; по вертикали – доля частот аллелей соответствующего кластера (апостериорная вероятность), по горизонтали – номера выборок

### Библиографический список

1. Шигапова А.И., Шигапов З.Х. Генетическое разнообразие популяций Сосны обыкновенной *Pinus sylvestris* L. // Вестник ОГУ. 2009. № 6. С. 445–447.
2. Исаев А.С. Актуальные проблемы национальной лесной политики / Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов Российской академии наук. М., 2009. 108 с.
3. Блам Ю.Ш., Бабенко Т.И., Машкина Л.В. Экономические последствия государственного регулирования лесного сектора // Регион: экономика и социология. 2011. № 2. С. 211–222.
4. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. 1985. P. 69–76.
5. Zietkiewicz E. Genome fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR) – Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification // Genomics. 1994. P. 176–183.
6. Боронникова С.В. Молекулярно-генетическая идентификация и паспортизация редких и находящихся под угрозой уничтожения видов растений. Пермь, 2008. С. 120.

## БИОРАЗНООБРАЗИЕ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ ООПТ «ШЛЮПИНСКИЙ КАМЕНЬ» (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

Пашова Ю.С.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Ефимик Е.Г.**

Памятник природы «Шлюпинский камень» находится на правом берегу реки Шаквы, в 13,5 км к юго-западу от села Березовка. ООПТ представляет собой крутой холм со скальными обнажениями, обращенными в сторону реки. Его площадь составляет 58,5 га [1]. Согласно ботанико-географическому районированию Пермского края [2] ООПТ «Шлюпинский камень» относится к району островной Кунгурской лесостепи.

Целью нашего исследования являлось изучение биоразнообразия сосудистых растений ООПТ «Шлюпинский камень».

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи: 1. Сбор гербарного материала на территории ООПТ «Шлюпинский камень» и его определение. 2. Проведение геоботанических описаний на территории ООПТ «Шлюпинский камень» и составление характеристики растительности. 3. Проведение систематического, экологического, биоморфологического и географического анализа флоры. 4. Выявление редких и охраняемых видов на территории ООПТ «Шлюпинский камень».

Обследование территории и сбор материала проводились в 2016–2018 гг. За время исследования для изучения флористического состава территории было собрано более 200 гербарных образцов, для составления характеристики растительности были проведены геоботанические описания во всех фитоценозах ООПТ. Для идентификации материала использовался «Иллюстрированный определитель растений Пермского края» [3].

В результате проведенных исследований была охарактеризована растительность (суходольные и остепненные луга, ковыльные, разнотравно-ковыльные и каменистые степи, пойменные луга, залежи) и составлен конспект флоры ООПТ «Шлюпинский камень» [4].

Всего на исследуемой территории нами было отмечено 160 видов сосудистых растений, относящихся к 114 родам и 33 семействам (табл. 1).

Таблица 1

Основные пропорции флоры ООПТ «Шлюпинский камень»

Отделы	Классы	Семейства		Роды		Виды	
		Число видов	%	Число видов	%	Число видов	%
Папоротниковидные		1	0,6	1	0,6	1	0,6
Голосеменные		2	1,3	3	1,9	3	1,9
Покрытосеменные		156	97,5	110	96,5	30	90,9
	Однодольные	3	1,9	13	8,3	22	14,1
	Двудольные	27	90,0	97	88,2	134	85,9
ИТОГО		33	100	114	100	160	100

Основу флоры ООПТ составляют покрытосеменные растения. На их долю приходится 97,5% видов. Далее идут голосеменные – 1,9% видов. На долю папоротников приходится всего 0,6% видов. Среди покрытосеменных растений преобладают представители класса двудольные – 83,8% общего количества видов.

Доминирующими семействами являются: *Asteraceae* – 24 вида, *Rosaceae* – 19 видов, *Poaceae* – 13 видов, *Fabaceae* – 13 видов, *Lamiaceae* – 8 видов, *Scrophulariaceae* – 8 видов и т.д. (табл. 2).

Таблица 2

Ведущие семейства флоры ООПТ «Шлюпинский камень»

№	Семейство	Число видов	% от общего числа видов
1	<i>Asteraceae</i>	24	15,0
2	<i>Rosaceae</i>	19	11,9
3	<i>Poaceae</i>	13	8,1
4	<i>Fabaceae</i>	13	8,1
5	<i>Lamiaceae</i>	8	5,0
6	<i>Scrophulariaceae</i>	8	5,0
7	<i>Apiaceae</i>	7	4,4
8	<i>Ranunculaceae</i>	7	4,4
9	<i>Brassicaceae</i>	6	3,8
10	<i>Caryophyllaceae</i>	6	3,8

Наибольшее число видов содержат следующие роды: *Carex* – 6 видов (5,3% от общего количества видов), *Campanula* и *Potentilla* – по 5 видов (4,4% от общего количества видов), *Artemisia*, *Hieracium*, *Lathyrus*, *Plantago*, *Ranunculus*, *Veronica* – по 3 вида (2,6% от общего количества видов), *Festuca* – 2 вида (1,8% от общего количества видов).

Экологический анализ флоры ООПТ «Шлюпинский камень» показал, что доминирующей экологической группой являются мезофиты – 116 видов (72,5% общего числа видов), что говорит о нормальных условиях увлажнения на ООПТ. За мезофитами следуют ксеромезофиты – 27 видов (16,9% общего числа видов). Ксеромезофиты преобладают на сухих склоновых участках и непосредственно на скалах. Для остальных экологических групп (гигрофиты, мезоксерофиты, гигромезофиты, мезогигрофиты, суккуленты) процент от общего числа видов составляет менее 5.

При проведении анализа жизненных форм было отмечено преобладание гемикриптофитов – 105 видов (65,6% от общего количества видов), что говорит о принадлежности флоры к умеренно-холодной таежной зоне.

Географический анализ флоры ООПТ «Шлюпинский камень» был проведен на основе метода биогеографических координат Б.А. Юрцева. Среди долготных групп преобладают евразийские – 50 видов (31,3% общего количества видов) и европейско-западносибирские – 33 вида (20,6%). Среди широтных групп на территории памятника природы преобладают бореальные – 63 вида (39,4%) и лесостепные – 36 видов (22,5%). Преобладание бореальных и лесостепных видов объясняется тем, что территория ООПТ входит в состав Кунгурской лесостепи, находящейся в таежной зоне.

На территории ООПТ «Шлюпинский камень» выявлены редкие и охраняемые виды растений, включенные в Красную книгу Пермского края [5] и Приложение к ней: ковыль перистый (*Stipa pennata* L.), спаржа лекарственная (*Asparagus officinalis* L.), астра альпийская (*Aster alpinus* L.), вишня степная (*Cerasus fruticosa* Pall.), истод сибирский (*Polygala sibirica* L.), прострел желтеющий (*Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz.). Указываемая в литературе [6] герань кроваво-красная (*Geranium sanguineum* L.) нами на территории ООПТ не обнаружена.

На территории ООПТ отмечено 77 видов синантропных растений (48%), что говорит о высокой степени антропогенной трансформации фитоценозов. При этом надо отметить, что собственно лесостепные группировки почти не затронуты процессами синантропизации. Большинство синантропных видов сосредоточено на залежах, вдоль проселочных дорог и тропинок. Привлекательность ООПТ как места стихийного отдыха дополнительно увеличивает антропогенную трансформацию фитоценозов ООПТ и представляет серьезную угрозу для существования уязвимых лесостепных группировок, а также охраняемых и редких растений Шлюпинского камня.

#### Библиографический список

1. Атлас особо охраняемых территорий Пермского края / под ред. С.А. Бузмакова. Пермь: Астер, 2017. 512 с.
2. Овеснов С.А. Местная флора. Флора Пермского края и её анализ: учеб. пособие по спецкурсу. Пермь, 2009. 215 с.
3. Иллюстрированный определитель растений Пермского края / С.А. Овеснов, Е.Г. Ефимик, Т.В. Козьминых и др. / под ред. С.А. Овеснова. Пермь: Кн. мир, 2007. 743 с.
4. Ефимик Е.Г., Пашова Ю.С. Конспект флоры ООПТ «Шлюпинский камень» (Пермский край) // Вестн. Перм. ун-та. Сер. Биология. 2019. Вып. 1. С. 21–25.
5. Красная книга Пермского края / под общ. ред. М.А. Бакланова. Пермь: Алдари, 2018. 232 с.
6. Слащев Д.Н., Гиляшова А.В. Территории высокой природоохранной ценности Березовского района Пермского края // Географич. вестн. 2010, № 3. С. 60–66.

## АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РЕМОНТНО-МАТОЧНОГО СТАДА ОСЕТРА СИБИРСКОГО (*ACIPENSER BAERII* BRANDT) НА ОСНОВАНИИ ПОЛИМОРФИЗМА МЕЖМИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЁРОВ

Пелеева А.Р., Комарова Л.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Научный руководитель: д.б.н., проф. Боронникова С.В.

Осетр сибирский (*Acipenser baerii* Brandt) являлся первым видом из семейства осетровых, который был введен в массовую товарную аквакультуру. В настоящее время

данный вид рыб разводят в искусственных условиях как в России, так и в ряде других стран [1]. Резкое снижение численности осетра сибирского вызвано рядом причин: исчезновением нерестилищ, загрязнением водоёмов, а также нерациональным и нелегальным промыслом. Данный вид включен в перечень особо ценных диких животных и водных биологических ресурсов, утвержденный Постановлением Правительства Российской Федерации от 13.10.2013, а байкальская и обская популяции осетра сибирского занесены в Красную книгу Российской Федерации [2]. Объектом исследования явилось ремонтно-маточное стадо *A. baerii* из рыбоводного хозяйства, которое находится в Костромской области.

Выделение ДНК выполнено из 136 рыб по стандартной методике С. Роджерса и А. Бендиха [3]. Молекулярно-генетический анализ осетра сибирского проведен при помощи межмикросателлитного анализа полиморфизма ДНК (Inter Simple Sequence Repeats – ISSR-метод). Амплификацию проводили в термоциклере «My Cyclor» (Bio-Rad, USA) с пятью ISSR-праймерами, эффективными для *A. baerii*, подобранными ранее [4], по стандартной программе ISSR-метода. Температура отжига в зависимости от G/C-состава праймеров варьировала от 54 до 64°C. Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 2% агарозном геле, которые окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в системе гель-документации GelDoc XR (Bio-Rad, USA). Компьютерный анализ полиморфизма ДНК проведен с помощью специализированного макроса GenAlEx6.5 для MS-Excel. Для анализа генетического разнообразия ремонтно-маточного стада *A. baerii* были использованы следующие параметры: доля полиморфных локусов ( $P_{95}$ ), эффективное ( $n_e$ ) и абсолютное число аллелей ( $n_a$ ), а также ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) [5].

При анализе фрагментов ДНК, амплифицированных в результате ПЦР, в изученной выборке выявлено 77 ISSR-PCR маркеров, из которых 66 были полиморфными ( $P_{95} = 0,857$ ). Число амплифицированных ISSR-фрагментов варьировало в зависимости от праймера от 13 (праймер X9) до 18 (праймер X10), а их размеры – от 200 до 2000 пн. Число полиморфных фрагментов в суммарной выборке варьировало от 11 до 17 (таблица). Праймер X10 выявил самые низкие значения полиморфизма ДНК в выборке, а праймер CR-215 – самые высокие.

Таблица

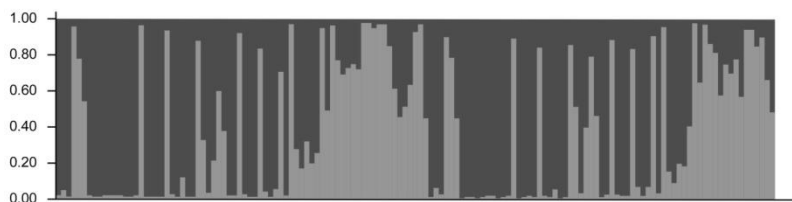
Характеристика ISSR-PCR маркеров *A. baerii*

ISSR-праймеры	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	Длина фрагментов, пн	Число ISSR-фрагментов в выборке	
			всего	полиморф-ных
CR-212	(CT) <sub>8</sub> TG	240-980	15	<b>13 (0,867)</b>
CR-215	(CA) <sub>6</sub> GT	210-980	17	<b>17 (1,000)</b>
X10	(AGC) <sub>6</sub> C	180-1750	18	<b>12 (0,667)</b>
X9	(ACC) <sub>6</sub> G	270-2000	13	<b>11 (0,846)</b>
X11	(AGC) <sub>6</sub> G	200-1030	14	<b>13 (0,929)</b>
Всего			77	<b>66 (0,857)</b>

Примечание. В скобках указана доля полиморфных локусов.

Ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) в выборке составила 0,265. Эффективное число аллелей ( $n_e$ ) равно 1,437. Абсолютное число аллелей ( $n_a$ ) на локус (в нашем случае на фрагмент ДНК) на общую выборку составило 1,974 (0,160).

Анализ структуры распределения генотипов в программе STRUCTURE показывает, что наиболее вероятным оказывается разделение исследуемой выборки на 2 кластера ( $K = 2$ ), соответствующим двум группам генотипов (рисунок).



Распределение генотипов в ремонтно-маточном стаде *A. baerii*: два кластера генотипов показаны разными цветами

Структура изученного ремонтно-маточного стада *A. baerii* гетерогенна, большинство особей могут быть отнесены к двум группам генотипов с апостериорной вероятностью 0,95.

Таким образом, изученная выборка осетра сибирского характеризуется высоким генетическим разнообразием ( $P_{95} = 0,857$ ;  $H_e = 0,265$ ;  $n_e = 1,437$ ) и относится к двум группам генотипов. Для сохранения генофонда и аллельного разнообразия *A. baerii*, для предотвращения появления гибридов рекомендуется проведение регулярной генетической экспертизы ремонтно-маточных стад этого вида в аквакультуре.

### Библиографический список

1. Bronzi P., Rosenthal H. Present and future sturgeon and caviar production and marketing: A global market overview // J. Appl. Ichthyol. 2014. Vol. 30. P. 1536–1546.
2. Красная книга Российской Федерации (животные) / гл. ред.: В.И. Данилов-Данильян и др. М.: АСТ:Астрель, 2001. 862 с.
3. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. 1985. Vol. 5, № 2. P. 69–76.
4. Комарова Л.В., Костицына Н.В., Боронникова С.В. Подбор ISSR-праймеров для молекулярно-генетического анализа стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus) // Тенденции инновационных процессов в науке. М., 2015. Т. 1. С. 6–8.
5. Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. New York: Columbia University Press. 1987. 512 p.

## МАКРОМИЦЕТЫ ООПТ «БОТАНИЧЕСКИЙ САД ПГУ»

Полковникова А.Ю.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: профессор, д.б.н., Переведенцева Л.Г.**

Макромицеты, являясь гетеротрофами, оказывают прямое воздействие на формирование и развитие живых, в особенности растительных, систем. В настоящее время макромицеты, обитающие на ООПТ «Ботанический сад ПГУ», изучены недостаточно.

В связи с этим целью работы являлось изучение биоразнообразия макромицетов ООПТ «Ботанический сад ПГУ».

Территория Ботанического сада занимает площадь 1,97 га, на которой выращивается более 5000 таксонов растений; выделены экспозиционная, производственная и научная зоны, дендрарий [3, 4, 5].

**Методика исследования.** Сбор грибов проводился с мая по октябрь в 2017 и 2018 гг. Проводился сбор, описание морфологии плодовых тел грибов [2], а также установление микроскопических признаков. Определялась принадлежность к эколого-трофическим группам по наблюдениям в природе и литературным данным [1].

**Результаты исследования.** На территории ООПТ «Ботанический сад ПГУ» грибы были обнаружены в дендрарии, производственной зоне, плодовом саду. Всего выявлено 47 видов макромицетов, относящихся к 4 порядкам, 18 семействам и 37 родам (таблица).

Таблица

Таксономическая структура макромицетов ООПТ «Ботанический сад ПГУ»

Порядок	Семейство (число родов / число видов в сем-ве)	Род (число видов)
Agaricales	Agaricaceae (3/10)	Agaricus (2); Lepiota (6); Lycoperdon (2)
	Bolbitiaceae (3/3)	Conocybe (1); Bolbitius (1); Pholiotina (1)
	Hydnangiaceae (1/3)	Laccaria (3)
	Inocybaceae (2/2)	Inocybe (1); Tubaria (1)
	Lyophyllaceae (1/1)	Calocybe (1)
	Marasmiaceae (2/2)	Marasmius (1); Mycetinis (1)
	Mycenaceae (1/1)	Mycena (1)
	Omphalotaceae (1/1)	Gymnopus (1)
	Pleurotaceae (1/1)	Pleurotus (1)
	Psathyrellaceae (4/4)	Coprinopsis (1); Lacrymaria (1); Parasola (1); Psathyrella (1)
	Schizophyllaceae (1/1)	Schizophyllum (1)
	Strophariaceae (6/8)	Agrocybe (1); Galerina (3); Hebeloma (1); Hypholoma (1); Kuehneromyces (1); Stropharia (1)
	Tricholomataceae (3/3)	Clitocybe (1); Flammulina (1); Melanoleuca (1)
Boletales	Boletaceae (1/1)	Leccinum (1)
Phallales	Phallaceae (1/1)	Mutinus (1)
Polyporales	Fomitopsidaceae (2/2)	Fomitopsis (1); Laetiporus (1)
	Ganodermataceae (1/1)	Ganoderma (1/1)
	Polyporaceae (2/2)	Fomes (1); Trametes (1)

Наиболее многочисленным является порядок Agaricales, включающий 40 видов, относящихся к 29 родам и 13 семействам. Ведущими семействами по числу видов являются: Agaricaceae (10 видов) и Strophariaceae (8 видов), что отличает микобиоту ООПТ от естественных ценозов. Порядки Boletales и Phallales представлны всего одним видом. Наиболее многочисленным являются роды *Lepiota* (6 видов), *Galerina* (3), *Laccaria* (3). Кроме распространенных видов грибов были обнаружены два редких вида (*Mutinus ravenelii* (Berk. & M.A. Curtis) E. Fisch – сморчок вонючий и *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill – трутовик серно-желтый).

Макромицеты ООПТ «Ботанический сад ПГУ» относятся к 6 эколого-трофическим группам (рисунок).

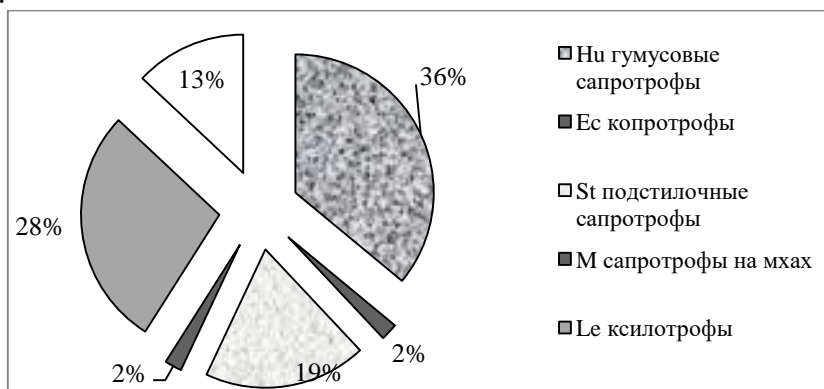


Рисунок. Соотношение количества видов по эколого-трофической принадлежности (в процентах от общего числа видов)

Это микоризные грибы (Mg), ксилотрофы (Le), подстилочные сапротрофы (St), гумусовые сапротрофы (Hu), сапротрофы на мхах, бриотрофы (M), копротрофы (Ec). Наиболее широко представлены гумусовые сапротрофы (36%), включающие роды: *Agaricus* – шампиньон, *Stropharia* – строфария, *Coprinopsis* – навозник, *Lepiota* – чешуйница, что свойственно агроценозам. Значительная доля ксилотрофов (28%) объясняется наличием растительных остатков, а также использованием опила в разных зонах ООПТ. Подстилочные сапротрофы занимают примерно пятую часть от всего видового состава грибов. В отличие от лесных ценозов, микоризные грибы немногочисленны (13%), несмотря на то, что на территории довольно много древесных растений.

В ресурсном спектре преобладают несъедобные грибы (53%), ядовитые составляют всего 6%. Остальные виды грибов съедобны (36%).

### Библиографический список

1. Коваленко А.Е. Экологический обзор грибов из порядков Polyporales s. str., Boletales, Agaricales s. str., Russulales в горных лесах центральной части Северо-Западного Кавказа // Микология и фитопатология. 1980. Т. 14, вып. 4. С. 300–314.
2. Биоразнообразие и экология низших растений. Методика сбора, описания и определения агарикоидных базидиомицетов: метод. указания для летней полевой практики / сост. Л.Г. Переведенцева. Пермь, 2007. 28 с.
3. Шумихин С.А. Ботанические экскурсии по коллекциям и экспозициям Ботанического сада им. А.Г. Генкеля Пермского университета: путеводитель: монография. СПб.: Маматов, 2015. 208 с.
4. Шумихин С.А. Ботанический сад имени профессора А.Г. Генкеля Пермского государственного университета (исторический очерк) // Растительный покров Пермской области и его охрана: Межвуз. сб. науч. тр. Пермь, 2003. С. 45–52.
5. Шумихин С.А. Ботанический сад ПГУ // Особо охраняемые природные территории Пермской области. Реестр. Пермь: Кн. мир, 2002. С. 250.

## РАЗМНОЖЕНИЕ НЕКОТОРЫХ СОРТОВ ЛИЛИЙ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

Попкова А.С.

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Шибанова Н.Л.**

Лилии – одни из наиболее декоративных многолетних луковичных культур, распространённых на большей части территории нашей страны. К достоинствам этой культуры относятся разнообразие окраски и форм цветков, универсальность в использовании – на срезку, для выгонки и озеленения. Большинство сортов и гибридов имеют очень низкий коэффициент размножения. Делением гнезда лукович за 2–3 года можно получить 2–4 новых луковичек, чешуями – 50–60 [1]. Метод микроклонального размножения лилий позволяет получить из одной чешуи луковичи за 6 месяцев  $10^5$  новых растений [2].

Цель данной работы – микроклональное размножение некоторых сортов лилий.

Исследования проводились в 2018 г. в лаборатории микроклонального размножения кафедры ботаники и генетики растений Пермского государственного национально исследовательского университета. В качестве объектов выбраны шесть сортов лилий из трех сортогрупп: восточные гибриды – сорта «Моно Лиза» и «Диззи», трубчатые гибриды – сорта «Пинк Перфекшн» и «Сноу Квин», лонгифлорум-азиатские гибриды (ЛА) – сорта «Глоуб» и «Самур».



Эксплантами для введения в культуру *in vitro* стали наружные и внутренние чешуи лукович размером 0,5–1,5 см<sup>2</sup>. Всего было высажено 960 эксплантов. Стерилизация материала проводилась в три этапа. Престерилизация – погружение экспланта в мыльный раствор на 40–60 мин. и промывка проточной водой в течение 10 мин. Стерилизация – погружение в 7% раствор гипохлорита натрия («Белизна») на 10–20 мин. и обработка 70% этиловым спиртом с экспозицией 10 с. (I режим стерилизации) или обработка 12% раствором перекиси водорода с экспозицией 15 мин. (II режим стерилизации). Постстерилизация – промывка в четырех сменах стерильной дистиллированной воды по 5 мин. в каждой. Стерилизация питательной среды проводилась в автоклаве Sanyo MLS-3780 при температуре 120°C под давлением 1 атм. в течение 15 мин.

Экспланты высаживались на твердую питательную среду с минеральной основой по Т. Murashige, F. Skoog [3], 6% сахарозы, 0,6% агар-агара. В качестве регуляторов роста использовались ауксины – индолилуксусная кислота (ИУК) и нафтилуксусная кислота (НУК) в концентрации 1 мг/л, цитокинин – 6-бензиладенин (6-БАП) в концентрации 1 мг/л. Также в среду добавлялись витамины – пиридоксин, тиамин и никотиновая кислота в концентрации 1 мг/л. Растения выращивались в условиях искусственного освещения в климатической камере при температуре + 22 ± 2°C и освещении 14/10. Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартного пакета анализа Microsoft Excel.

Этапы микроклонального размножения являются общепринятыми [4]. Первый этап включает получение стерильной культуры, выход которой вычисляли как отношение числа стерильных объектов к общему числу эксплантов.

Установлено, что достоверные различия при I режиме стерилизации имеются между сортами: «Моно Лиза» и «Пинк Перфекшн»/«Самур» ( $p = 0.03/p = 0.002, p < 0.05$ ), «Диззи» и «Пинк Перфекшн»/«Глоуб»/«Самур» ( $p = 0.001/p = 0.004/p = 0.00001, p < 0.05$ ). Высокий процент выхода стерильной культуры у сортов «Самур» – 91 и «Пинк Перфекшн» – 85. При II режиме стерилизации достоверных различий между сортогруппами не наблюдается ( $p = 0.33, p < 0.05$ ), средний процент выхода стерильной культуры – 37,3±4,6. По данным работы В.В. Французенка [5] высоким процентом выхода стерильной культуры можно считать, если результат отклоняется на 10–20% от 100. При введении лилий в культуру *in vitro* было использовано 4 варианта среды (таблица).

Таблица

Процент выхода жизнеспособных эксплантов лилий на твердой питательной среде Murashige & Skoog

Вариант среды \ Сорт	I	II	III	IV
«Моно Лиза»	45,0	77,5	55,0	32,5
«Диззи»	30,0	65,0	67,5	40,0
«Пинк Перфекшн»	52,5	90,0	47,5	52,5
«Сноу Квин»	47,5	85,0	42,5	65,0
«Глоуб»	50,0	72,5	85,0	35,0
«Самур»	42,5	65,0	80,0	60,0

Примечание. I – с витаминами и ИУК (1 мг/л), II – с витаминами и НУК (1 мг/л), III – с витаминами и БАП (1 мг/л), IV – без витаминов и фитогормонов

Достоверные различия наблюдались на среде MS+НУК между трубчатыми и восточными/ЛА-гибридами гибридами, ( $p = 0.011/p = 0.006, p < 0.05$ ), на среде MS+БАП между ЛА и восточными/трубчатыми гибридами ( $p = 0.004/0.0001, p < 0.05$ ). На среде MS+ИУК достоверных различий нет ( $p = 0.33, p < 0.05$ ). Эффективные варианты среды – с добавлением БАП, процент развития жизнеспособных эксплантов составляет 70 и НУК –

75,8. Жизнеспособность определяли в процентах как число стерильных объектов с признаками регенерации.

Коэффициент размножения варьировал от 2 до 14 и рассчитывался как количество деток (новых луковичек) на одной чешуе луковицы (экспланте). Статистически значимых различий между сортами не наблюдается ( $t = 1.973 < t_{0,05}$ ) и соответственно количество новообразовавшихся луковичек не зависит от принадлежности к сортогруппе.

Растения, полученные в культуре *in vitro*, были высажены в закрытый грунт, содержащий низинный и верховой торф, речной песок, перлит, комплекс минеральных удобрений. Они выращивались при температуре 20–24°C. Выход адаптированных растений составил 71,6%.

#### Библиографический список

1. Соколова М.А. Размножение трубчатых гибридов лилий с применением регуляторов роста // Вестн. Брянск. гос. с/х академии. 2012. Вып. 6. С. 9–11.
2. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе. М.: Наука, 1999. 272 с.
3. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures // *Physiol Plant*. 1962. Vol. 15(3). P. 490.
4. Кутас Е.Н., Сидорович Е.А., Решетникова В.Н. Клональное микроразмножение индуцированных растений. Мн.: УП Технопринт, 2003. 270 с.
5. Французёнок В.В. Совершенствование методов микрклонального размножения лилий: автореф. дис. ... канд. с/х. наук. Горки, 1997. 22 с.

### АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПОПУЛЯЦИЙ *LARIX SIBIRICA* LEDEB. НА УРАЛЕ

Пришнивская Я.В.<sup>1,2</sup>, Васильева Ю.С.<sup>1</sup>, Чертов Н.В.<sup>1</sup>, Жуланов А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> Естественнаучный институт Пермского государственного национального исследовательского университета, г. Пермь, Россия.

Сведения о популяционно-генетической структуре лесных древесных растений являются основой оценки внутривидового генетического потенциала и разработки для каждого из них комплекса мероприятий, направленных на максимальное сохранение генетических ресурсов видов в процессе их использования и воспроизводства [1, 2].

Объектами исследований являлись пятнадцать выборок *L. sibirica* расположенные на Урале. Пять располагаются на Южном Урале: Kar, Ir, VS – из Челябинской области и Kul, Zil из респ. Башкортостан. Пять – на Северном Урале: Tul, Ish, Krv, Bnd, Gn (Пермский край). И пять выборок со Среднего Урала: Kch, Bil – из Свердловской области и Pol, Osa, Sks – из Пермского края.

Для молекулярно-генетического анализа *L. sibirica* был избран ISSR-метод (Inter Simple Sequence Repeats) или межмикросателлитный анализ полиморфизма ДНК [3]. Анализ проводили по стандартной методике [4]. Для описания генетической структуры и дифференциации популяций *L. sibirica* были использованы следующие параметры:  $H_t$  – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов, как мера общего генного разнообразия во всей популяции;  $H_s$  – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в субпопуляции, как мера ее внутривидового разнообразия или среднее выборочное генное разнообразие по всем локусам;  $G_{ST}$  – доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии или показатель подразделенности популяций [5]. На основе матрицы бинарных признаков была рассчитана матрица генетических различий, на основании которой невзвешенным

парно-групповым методом (UPGMA – unweighed pair-grup method using arithmetic average) была построена дендрограмма, отражающая степень сходства исследуемых популяций по ISSR-спектрам при помощи компьютерных программ Treeson 1.3b и POPGENE 1.31. Кроме того, для описания генетической структуры и исследования соответствия между кластерами генотипов и группами выборок применялась программа STRUCTURE 2.3.4. В ней реализован байесовский алгоритм кластеризации генотипов в  $K$  кластеров с учетом априорной информации о географическом положении рассматриваемых популяций. Для выбора оптимального  $K$ , где  $5 \leq K \leq 18$ , использовался логарифм правдоподобия  $\text{LnPD}$ . Анализ популяционной структуры проводился с помощью on-line приложения STRUCTURE Harvester.

Анализ параметров генетической структуры на общую выборку *L. sibirica* показал, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов на общую выборку ( $H_T$ ) составила 0,278; а ожидаемая доля гетерозиготных генотипов на отдельную выборку ( $H_S$ ) – 0,185. Коэффициент подразделенности ( $G_{ST} = 0,335$ ) указывает, что изученные выборки сильно дифференцированы; на межвыборочную компоненту приходится 33,5% всего генетического разнообразия изученных выборок лиственницы, большая часть 66,5% сосредоточена внутри выборок. Наибольший вклад в дифференциацию изученных выборок вносит праймер CR-215.

На дендрограмме выборки сформировали шесть кластеров. В первый кластер вошли южноуральские выборки Kul и Zil, во второй Kar, Ir и VS. В третий кластер вошли горные выборки, произрастающие на высоте от 600 до 900 м над уровнем моря в пределах Северного Урала (Tul, Ish, Kch); в кластер 4 объединились предгорные выборки Среднего Урала на высоте местности от 240 до 350 м над уровнем моря (Sks, Bil). В пятом кластере находятся равнинные выборки, произрастающие на высотах 190-200 м над уровнем моря на широте Северного Урала (Bnd, Krv, Gn). Шестой кластер составляют две выборки (Pol, Osa), расположенные также на небольших высотах (около 200 м над уровнем моря) из центральной части Пермского края в пределах широт Среднего Урала. Узлы ветвления имеют высокий индекс бутстрепа ( $> 50\%$ ), что говорит о достоверности межпопуляционных и межкластерных различий.

Анализ популяционной структуры с помощью STRUCTURE выявил, что с ростом величины  $K$  среднее значение логарифма функции вероятности  $\text{LnP}(D)$  возрастает от  $K = 5$  до  $K = 14$ , а затем выходит на плато, но при этом значительно возрастает дисперсия. Максимальное значение  $\text{LnP}(D)$  с низкой дисперсией  $K$  наблюдается при  $K = 6$ . Для обнаружения количества  $K$ -групп, которые наилучшим образом соответствуют набору данных, так же используют значение коэффициента  $\Delta K$ , который тоже оказался максимальным при  $K = 6$ .

Таким образом, наиболее вероятным оказывается разделение исследуемых выборок на 6 генетических кластеров, что соответствует кластерам, полученным при построении дендрограммы генетического сходства (рисунок).

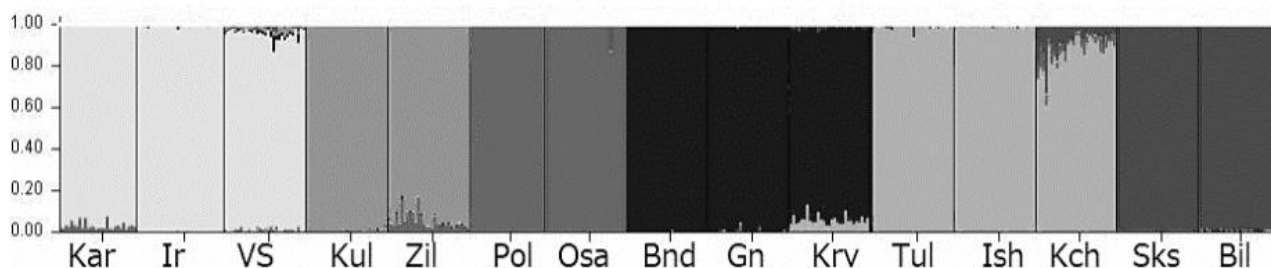


Рисунок. Структура распределения генотипов в популяциях *L. sibirica* при  $K = 6$ ; по вертикали – доля частот аллелей соответствующего кластера (апостериорная вероятность), по горизонтали – обозначения популяций

Итак, изученные выборки *L. sibirica* в значительной степени дифференцированы, большая часть всего наблюдаемого генетического разнообразия сосредоточена внутри

популяций. Наиболее вероятным является разделение выборок на шесть генетических кластеров.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00348\18*

#### Библиографический список

1. Политов Д.В. Генетика популяций и эволюционные взаимоотношения видов сосновых (сем. Pinaceae) Северной Евразии: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Москва, 2007. 50 с.
2. Биоразнообразие лиственниц Азиатской России / отв. ред. С.П. Ефремов, Л.И. Милютин. Новосибирск: Гео, 2010. 159 с.
3. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. Vol. 20. P. 176–183.
4. Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. New York: Columbia University Press, 1987. 512 p.
5. Nei M., Chesser R.K. Estimation of fixation indexes and gene diversities // Annals of Human Genetics. 1975. № 47. P. 253–259.

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И МЕЖПОПУЛЯЦИОННАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ *PINUS SYLVESTRIS* L. НА ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ РАВНИНЕ

Пришнивская Я.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., проф. Боронникова С.В.**

В настоящее время актуальна проблема сохранения биологического разнообразия, поскольку воздействие комплекса антропогенных факторов радикально изменяет естественную среду обитания видов [1]. Сохранение генетических ресурсов ценных древесных растений, предполагает исследование сложившейся нативной популяционной структуры, то есть характерных для вида уровней внутривидовой генетической изменчивости и пространственного распределения генетической изменчивости [2].

Объектом исследования являются 8 хорологически смежных популяций *Pinus sylvestris*, расположенных на Восточно-Европейской равнине. Эти популяции были выделены ранее на основании морфофенотипических данных шишек [3]. В каждой популяции хвоя была собрана на двух выборках, поэтому общее число выборок равнялось шестнадцати.

Для молекулярно-генетического анализа *P. sylvestris* был избран ISSR-метод (Inter Simple Sequence Repeats) или межмикросателлитный анализ полиморфизма ДНК [4]. Для описания генетической структуры и дифференциации популяций *P. sylvestris* были использованы следующие параметры [5]:  $H_T$  – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов как мера общего генетического разнообразия во всей популяции;  $H_S$  – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в субпопуляции, как мера ее внутривидовой генетической изменчивости или среднее выборочное генетическое разнообразие по всем локусам;  $G_{ST}$  – доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии или показатель подразделенности популяций.

В шестнадцати выборках восьми популяций *P. sylvestris* посредством ПЦР с пятью эффективными ISSR-праймерами выявлены 144 ISSR-PCR-маркеров, из которых 135 являлись полиморфными ( $P_{95}=0,938$ ). Наименьшее генетическое расстояние отмечено между выборками, которые принадлежат одной популяции. Например, генетическое расстояние

между выборками *PsIV\_7* и *PsIV\_8* четвертой популяции равно 0,042. Наибольшее генетическое расстояние отмечено между выборками *PsI\_1* и *PsVII\_14* ( $D=0,441$ ), которые принадлежат разным популяциям.

На основании полученной матрицы был проведен кластерный анализ невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA) и построена дендрограмма, отражающая степень родства исследуемых популяций по ISSR-спектрам. Изученные 16 выборок образовали 8 кластеров, каждый из которых содержит по две близко географически расположенные выборки. Кластеры соответствуют 8 популяциям, которые были выделены А.И. Видякиным ранее [3] по морфологическим признакам шишек.

Кроме того, анализ распределения генотипов в программе STRUCTURE 2.3.4 показал, что наиболее вероятным оказывается разделение исследуемой выборки на 8 кластеров, соответствующим 8 генетическим популяциям.

Анализ генетической структуры изученных популяций *P. sylvestris* на Восточно-Европейской равнине показал, что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов ( $H_T$ ) на общую выборку составила 0,320, а ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной популяции по всем локусам ( $H_S$ ) равна 0,170. Таким образом, показатель подразделенности популяций ( $G_{ST}$ ) составил 0,468.

На UPGMA-дендрограмме генетического сходства изученные популяции сформировали 4 кластера (рисунок).

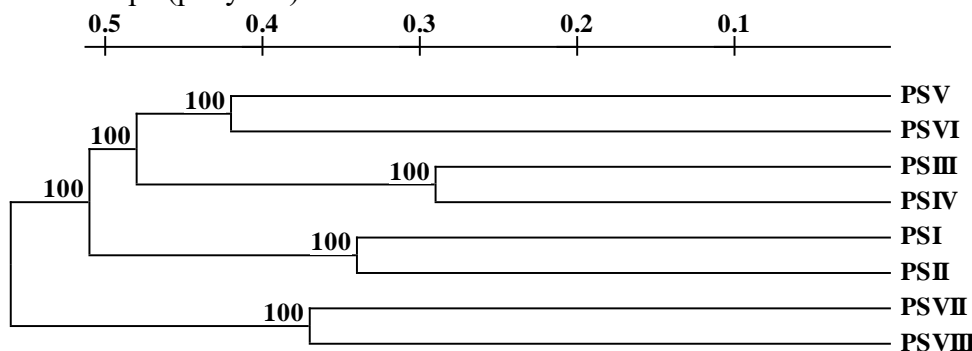


Рисунок. Дендрограмма, построенная UPGMA-методом по ISSR-спектрам для выборок *P. sylvestris*; шкала сверху – генетическое расстояние; на дендрограмме цифрами указаны значения бутстрепа (в %)

В первый кластер вошли популяции *PsV* и *PsVI*; во второй кластер вошли популяции *PsIII* и *PsIV*; к этим двум кластерам примыкает кластер, в который входят популяции *PsI* и *PsII*, популяции *PsVII* и *PsVIII* образовали отдельный кластер. Узлы ветвления имеют высокий индекс бутстрепа (100%), что говорит о достоверности межпопуляционных и межкластерных различий.

На наименьшем генетическом расстоянии ( $D$ ) расположены популяции *PsI* и *PsII* ( $D = 0,066$ ), а на наибольшее расстояние отмечено между популяциями *PsI* и *PsIV* ( $D = 0,308$ ).

Таким образом, изученные популяции сосны обыкновенной в дифференцированы в сильной степени, так как на долю межпопуляционной изменчивости приходится 46,8%. Тем не менее, большая часть генетического разнообразия сосредоточена внутри популяций (55,2%).

### Библиографический список

1. Конвенция о биологическом разнообразии [Электронный ресурс] Рио-де-Жанейро, 5 июня 1992 г. URL: <http://base.garant.ru/2107744/> (дата обращения: 18.04.2019).
2. Политов Д.В. Генетика популяций и эволюционные взаимоотношения видов сосновых (сем. *Pinaceae*) Северной Евразии: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Москва, 2007. 50 с.
3. Видякин А.И. Популяционная структура сосны обыкновенной на востоке европейской части России: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Екатеринбург, 2004. 48 с.

4. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics*. 1994. Vol. 20. P. 176–183.

5. Nei M., Chesser R.K. Estimation of fixation indexes and gene diversities // *Annals of Human Genetics*. 1975. № 47. P. 253–259.

## АНАЛИЗ ФЛОРЫ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ ООПТ «ЛИПОВАЯ ГОРА» (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

Тиунов Д.Н.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Ефимик Е.Г.**

В статье приводятся результаты анализа флоры сосудистых растений охраняемого природного ландшафта местного значения «Липовая гора». Территория была предложена к охране в 1981 году. Общая площадь ООПТ составляет 585 га, что составляет 1,5 % от городских лесов города Перми, занимающих площадь 37 965 га [1]. Уникальной чертой охраняемого ландшафта являются реликтовые липняки травяные с преобладанием в древостое липы сердцелистной с незначительной примесью пихты сибирской, которые занимают около 70 % площади территории.

Целью исследования являлось изучение биоразнообразия сосудистых растений ООПТ «Липовая гора».

Задачи:

1. Сбор гербарного материала на территории ООПТ «Липовая гора», его дальнейшее определение и составление конспекта флоры.
2. Проведение геоботанических описаний на ООПТ и составление на их основе характеристики растительности.
3. Проведение систематического, экологического и биоморфологического анализа флоры.
4. Выявление редких и охраняемых растений на ООПТ.
5. Сравнение флоры ООПТ «Липовая гора» с флорой ООПТ «Сарашевские дубравы».

Флористические работы по изучению биоразнообразия сосудистых растений проводились в весенне-летний период 2016–2018 гг. на ООПТ «Липовая гора» г. Перми. В ходе исследования было собрано более 150 гербарных образцов. Для составления характеристики растительности охраняемой территории было проведено 17 геоботанических описаний. Видовая принадлежность собранного материала определялась на кафедре ботаники и генетики растений с использованием «Иллюстрированного определителя растений Пермского края» [2].

В ходе работы были описаны преобладающие типы растительности на территории, а также составлен конспект флоры [3,4,5]. Всего на территории ООПТ «Липовая гора» в результате проведенных исследований выявлен 241 вид сосудистых растений, которые относятся к 156 родам и 53 семействам, среди которых около 40 являются синантропными [3].

В соответствии с ботанико-географическим районированием Пермского края С.А. Овеснова [6] ООПТ «Липовая гора» относится к району широколиственно-елово-пихтовых лесов.

Покрытосеменные – один из наиболее крупных отделов высших сосудистых растений, представленных на ООПТ «Липовая гора». На его долю приходится 94,2 % видов, 93,6 % родов, 88,7 % семейств. На долю голосеменных – 1,7 % видов, 2,6 % родов, 1,9 % семейств. Доля папоротниковидных составляет 2,9 % видов, 3,2 % родов и 7,5 % семейств от общего количества, а хвощевидных – 1,2 % видов, 0,6 % родов и 1,9 % семейств.

Основную часть флоры ООПТ составляют покрытосеменные растения, среди которых преобладающими являются представители класса двудольные. Такой состав и пропорции растений типичны для флор умеренных районов Голарктики.

Доминирующей экологической группой являются мезофиты – 188 видов (78,0 % от общего количества видов). Высокий процент содержания мезофитов на территории говорит о мезофильном характере флоры.

В ходе анализа жизненных форм было отмечено преобладание гемикриптофитов – 152 вида (59,8 % от общего количества видов), что характерно для умеренно-холодных районов.

Во флоре ООПТ «Липовая гора» отмечены 4 редких вида растений, занесенных в Приложение к Красной книге Пермского края [7] (*Iris pseudacorus* L., *Platanthera bifolia* (L.) Rich., *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soo, *Epipactis helleborine* (L.) Crantz).

Для оценки специфичности состава флоры ООПТ «Липовая гора» и определения ее места в общей схеме флористического районирования было проведено ее сравнение с флорой ООПТ «Сарашевские дубравы» [8]. Территории географически не слишком удалены друг от друга и фациально сопоставимы, обе охраняемые территории расположены в полосе широколиственно-хвойных лесов таежной зоны в Пермском крае.

**Семейственные спектры.** Списки 10 ведущих семейств сравниваемых флор полностью совпадают только в первых трех ведущих семействах: *Asteraceae*, *Poaceae*, *Rosaceae*. Коэффициент специфичности состава семейств очень невысок (18,6 %) в связи с небольшими определенными различиями в составе семейств. Среди 10 ведущих семейств ООПТ «Липовая гора» отсутствуют *Brassicaceae* и *Scrophulariaceae*, повышена роль *Ranunculaceae* и *Fabaceae*, что свидетельствует о более аридных условиях, а во флоре ООПТ «Сарашевские дубравы» – *Salicaceae* и *Apiaceae*, повышена роль *Cyperaceae*.

**Родовые спектры.** Общие списки 12 ведущих родов сравниваемых флор совпадают больше, чем списки семейств, но опять же с некоторыми различиями.

Во флоре ООПТ «Липовая гора» по разнообразию видов в роду первое место занимает род *Salix*, второе – род *Carex*, третье – род *Poa*. Во флоре ООПТ «Сарашевские дубравы» на первых трех ведущих местах находятся виды рода *Carex*, *Polygonum* и *Trifolium*. Снижена роль рода *Poa*. Преобладание во флоре рода *Carex* – одна из черт умеренно-лесных флор.

**Видовые спектры.** Коэффициент сходства Жаккара, равный 35 %, говорит о значительных различиях в видовом спектре флор сравниваемых ООПТ. Можно сказать, что биоразнообразие сосудистых растений на ООПТ «Липовая гора» малоспецифично по отношению к ООПТ «Сарашевские дубравы». Небольшой процент сходства между флорой рассматриваемых ООПТ обусловлен некоторыми причинами. Во-первых, это определяется разницей площадей территорий, во-вторых, специфичным по отношению к ООПТ «Липовая гора» разнообразием рельефа и экосистем на ООПТ «Сарашевские дубравы», в-третьих, повышенным уровнем антропогенной нагрузки на ООПТ «Липовая гора», а также меньшей степенью изученности.

### Библиографический список

1. Атлас особо охраняемых природных территорий Пермского края / под ред. С.А. Бузмакова. Пермь: Астер, 2017. 446 с.
2. Иллюстрированный определитель растений Пермского края / С.А. Овеснов, Е.Г. Ефимик, Т.В. Козьминых и др. / под ред. С.А. Овеснова. Пермь: Кн. мир, 2007. 743 с.
3. Ефимик Е.Г., Тиунов Д.Н. Конспект флоры ООПТ «Липовая гора» (г. Пермь) // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. 2017. Вып. 4. С. 373–379.
4. Ефимик Е.Г., Тиунов Д.Н. Флора и растительность ООПТ «Липовая гора» (г. Пермь) // Экология города: состояние и охрана окружающей среды города Перми. 2017. С. 61–64.
5. Тиунов Д.Н., Ефимик Е.Г. Ботаническая характеристика ООПТ «Липовая гора» (г. Пермь) // Антропогенная трансформация природной среды. 2017. № 3. С. 78–80.
6. Овеснов С.А. Местная флора. Флора Пермского края и её анализ: учеб. пособие по спецкурсу. Пермь, 2009. 215 с.

7. Красная книга Пермского края / под общ. ред. М.А. Бакланова. Пермь: Алдари, 2018. 232 с.
8. Ефимик Е.Г., Овеснов С.А. Флора охраняемого ландшафта «Сарашевские дубравы» (Пермский край) // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. 2015. Вып. 4. С. 293–304.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОФОНДОВ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ *ADONIS WOLGENSIS* STEV. СЕВЕРНОГО КАЗАХСТАНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ISSR-МЕТОДА

Томилова Ю.О.<sup>1</sup>, Бельтюкова Н.Н.<sup>1</sup>, Ульянов В.А.<sup>2</sup>, Бейшова И.С.<sup>2</sup>,  
Султангазина Г.Ж.<sup>2</sup>, Бейшов Р.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>КГУ им. А. Байтурсынова, г. Костанай, Казахстан

Современные молекулярно-генетические методы, наряду с традиционными приемами, используют для сохранения генофондов редких видов растений [1]. Использование высокоэффективных молекулярно-генетических методов с учетом показателей генетического разнообразия, позволит сохранить генофонды редкого вида растений *Adonis wolgensis* с возможностью проведения отбора в природных условиях ценопопуляций и их групп как с наиболее типичными, так и со специфичными характеристиками генофондов. Необходимые показатели генетического разнообразия установлены по результатам молекулярного маркирования множественных геномных участков, а также с обязательным учетом уровней внутри- и межпопуляционного разнообразия. В качестве объектов исследований избраны 5 ценопопуляций редкого вида растений *Adonis wolgensis* Stev., расположенные на территории Павлодарской (Aw1;Aw3), Костанайской (Aw2;Aw5) и Акмолинской областей (Aw4) Республики Казахстан. Нами была выделена ДНК из 150 образцов высушенных листьев *A. wolgensis* по модифицированной методике [2]. После выделения ДНК был проведен спектрофотометрический анализ на спектрофотометре Spectrofotometr<sup>TM</sup>NanoDrop 2000 («Thermoscientific», США) и определены концентрация ДНК в полученных пробах ДНК и степень их чистоты. Выявление генетического полиморфизма ДНК *A. wolgensis* проводили ISSR-методом анализа полиморфизма ДНК с применением полимеразной цепной реакции и электрофоретического разделения нуклеиновых кислот в агарозном геле. Каждый праймер индивидуально был проанализирован в ПЦР с тотальной ДНК исследуемого вида. Для дальнейшего проведения молекулярно-генетического анализа полиморфизма ДНК *A. wolgensis* были отобраны 5 праймеров [2].

Исследования показали, что *A. wolgensis* характеризуется высоким уровнем генетического разнообразия (доля полиморфных локусов ( $P_{95}$ ) варьирует от 0,838 (Aw2; Aw5) до 0,888 (Aw3) и в среднем составила 0,877. Доля полиморфных локусов в общей выборке *A. wolgensis* в зависимости от ISSR-праймера колебалась от 0,555 (M3) до 1,000 (M27). Число полиморфных фрагментов ДНК варьировало от 67 (Aw1, Aw2, Aw4) до 72 (Aw3). Ожидаемая гетерозиготность по локусам в ценопопуляциях *A. wolgensis* варьировала от 0,273 (Aw2) до 0,300 (Aw1), и в среднем составила 0,285. При этом, уровень межпопуляционной дифференциации *A. wolgensis* довольно *низкий* ( $G_{ST} = 0,131$ ).

На основании полученных данных по ISSR-анализу полиморфизма ДНК *A. wolgensis* были определены генетические взаимоотношения между исследуемыми ценопопуляциями, составлена матрица бинарных признаков и рассчитаны матрицы генетических различий.



Наименьшее генетическое расстояние [3] отмечено между Aw2 и Aw4 ( $D = 0,056$ ), а наибольшее – между Aw3 и Aw2 ( $D = 0,127$ ).

Оценка специфических особенностей генофондов проводилась по таким показателям, как число редких аллелей ( $R$ ) и коэффициент генетической оригинальности (КГО) [4, 5]. На основании анализа ряда параметров генетического разнообразия с преобладающей ролью показателя КГО установлено, что базовыми или типичными характеристиками генофондов обладают ценопопуляции Aw3 и Aw5 *A. wolgensis* из Павлодарской и Костанайской областей Северного Казахстана, а специфическими генофондами обладают Aw1, Aw2 и Aw4. Состояние генофондов всех изученных 5 ценопопуляций *A. wolgensis* удовлетворительное.

На основании проведенного ISSR-анализа генетического полиморфизма пяти ценопопуляций адониса волжского Северного Казахстана можем заключить, что изученные ценопопуляции этого вида характеризуются высокими показателями генетического разнообразия и низкой генетической подразделенностью ценопопуляций. В ценопопуляциях практически отсутствуют уникальные ISSR-маркеры. Сеем предположить, что выбранные ценопопуляции являются частью одной локальной популяции *A. wolgensis* на территории Северного Казахстана.

*Работа выполнялась в рамках проекта грантового финансирования Министерства образования и науки Республики Казахстан на 2018–2020 гг. № AP05132458 «Молекулярно-генетический анализ генофондов популяций редких видов растений Северного Казахстана», номер государственной регистрации 0118PK00404.*

#### **Библиографический список**

1. Боронникова С.В. Молекулярно-генетический анализ и оценка состояния генофондов ресурсных видов растений Пермского края: монография. Пермь, 2013. 239 с.
2. Подбор эффективных ISSR-праймеров для редкого вида *Adonis wolgensis* Stev. / Н.Н. Бельтюкова и др. // Современные научные исследования и разработки. 2018. № 08(25). URL: <http://olimpiks.ru/zhurnal-sovremennyye-nauchnyye-issledovaniya-i-razrabotki> [дата обращения: 15.04.2019].
3. Nei M. Molecular evolutionary genetics. N.Y.: Columbia Univ. press, 1987. 512 p.
4. Боронникова С.В. Молекулярное маркирование и генетическая паспортизация ресурсных и редких видов растений с целью оптимизации сохранения их генофондов // Аграрный вестник Урала. 2009. № 2 (56). С. 57–59.
5. Потокина Е.К., Александрова Т.Г. Методы классификации внутривидового разнообразия по результатам молекулярного маркирования // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI в.: материалы Всерос. конф. Петрозаводск, 2008. Ч. 3. С. 62–65.

### **АНАЛИЗ АДВЕНТИВНЫХ И СИНАНТРОПНЫХ РАСТЕНИЙ НА ООПТ «УТИНОЕ БОЛОТО» И ООПТ «НОВОКРЫМСКИЙ ПРУД»**

Тутынин А.Н.

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: профессор Овеснов С.А.**

В условиях современного антропогенного пресса растительные сообщества охраняемых ландшафтов испытывают серьезные нагрузки, особенно охраняемые ландшафты, расположенные в черте крупных городов. К таким охраняемым ландшафтам относятся ООПТ «Утиное болото» и «Новокрымский пруд», расположенные среди плотной жилой застройки в Кировском районе г. Перми.

Ключом к пониманию степени антропогенной трансформации флор охраняемых ландшафтов, является количество и характер адвентивной и синантропной растительности.

В ходе полевых исследований в летний период 2018 г. мной было выявлено 184 вида сосудистых растений, относящихся к 135 родам и 50 семействам на ООПТ «Утиное болото» и 70 видов сосудистых растений, относящихся к 60 родам и 30 семействам на ООПТ «Новокрымский пруд».

Во флоре ООПТ «Утиное болото» было выявлено 64 адвентивных вида и 79 синантропных видов. Во флоре ООПТ «Новокрымский пруд» было выявлено 28 адвентивных видов и 36 синантропных видов.

Для адвентивной фракции флоры были проведены анализы по времени проникновения на территорию, по способу попадания на территорию и по степени натурализации [3, 4].

Так, по времени проникновения, для обоих охраняемых ландшафтов характерно преобладание группы кенофитов – видов, занесенных после XVI века (84% для ООПТ «Утиное болото» и 80% для ООПТ «Новокрымский пруд»). Наиболее типичными представителями кенофитов явились: *Acer negundo* L., *Heracleum sosnowskyi* Manden., *Cichorium intybus* L., *Saponaria officinalis* L. и т.д.

По способу попадания, для ООПТ «Утиное болото» характерны примерно равные показатели между эргазиофитофитами – видами, занесенными преднамеренно, одичавшими и способными без помощи человека удержаться во флоре; и ксенофитами – видами, занесенными непреднамеренно и чаще всего, являющимися сорно-рудеральными. Доля эргазиофитофитов в адвентивной фракции флоры ООПТ «Утиное болото» составила 48,44%. Наиболее типичными представителями этой группы являются такие виды, как: *Hippophaë rhamnoides* L., *Amelanchier ovalis* Medik., представители рода *Malus* и др. Доля ксенофитов в адвентивной фракции флоры ООПТ «Утиное болото» составила 51,56%. Наиболее типичными представителями этой группы являются такие виды, как: *Pastinaca sylvestris* Mill., *Arctium minus* (Hill) Bernh., *A. tomentosum* Mill. и др.

Для адвентивной фракции флоры ООПТ «Новокрымский пруд» характерно преобладание ксенофитов (69,23%) над эргазиофитофитами (30,77%), с такими видами, как: *Cichorium intybus* L., *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik., *Melilotus albus* L., *M. officinalis* (L.) Lam. и др.

По степени достигнутой натурализации для обоих охраняемых ландшафтов характерно преобладание эпекофитов – видов, встречающихся на нарушенных местообитаниях (52% для ООПТ «Утиное болото» и 66% для ООПТ «Новокрымский пруд»). Следующей по численности группой являются агриофиты (инвазивные) – виды, способные входить в состав естественных сообществ (41% для ООПТ «Утиное болото» и 27% для ООПТ «Новокрымский пруд»). Наиболее типичными представителями агриофитов явились: *Acer negundo* L., *Amelanchier ovalis* Medik., *Malus baccata* (L.) Borkh., *Padus maackii* (Rupr.) Kom. Самой малочисленной группой стали эфемерофиты – виды, существующие на территории благодаря регулярному заносу семян, но не проходящих полного жизненного цикла (по 7% для ООПТ «Утиное болото» и ООПТ «Новокрымский пруд»). К этой группе относятся такие виды, как: *Cotoneaster lucidus* Schldl., *Populus laurifolia* Ledeb., *Spiraea salicifolia* L.

По количеству синантропных видов было установлено, что доля антропогенной трансформации для ООПТ «Утиное болото» и ООПТ «Новокрымский пруд» составила – 42,93% и 51,43% соответственно [1].

В видовом составе двух ООПТ выявлено большое количество адвентивных видов (34,78% для ООПТ «Утиное болото» и 40% для ООПТ «Новокрымский пруд»). Такие высокие обусловлены положением охраняемых ландшафтов внутри городской застройки. По степени синантропизации флоры достигается высокий уровень антропогенной трансформации [2]. Большое количество синантропных видов обусловлено развитой тропиной сетью, наличием кострищ, свалок бытового мусора. Все эти факторы обеспечивают большое количество нарушенных местообитаний, и как следствие большое участие синантропных видов в биологическом разнообразии растений.

### Библиографический список

1. Горчаковский П.Л. Тенденция антропогенных изменений растительного покрова Земли // Бот. журн. 1979. Т. 64, № 12. С. 1697–1714.
2. Горчаковский П.Л., Рябинина З.Н. Степная растительность Урало-Илекского междуречья, её антропогенная деградация и проблемы охраны // Экология. 1981. Вып. 3. С. 9–23.
3. Третьякова А.С., Мухин В.А. Синантропная флора Среднего Урала. Екатеринбург: Екатеринбург, 2001. 148 с.
4. Туганаев В.В., Пузырев А.Н. Гемерофиты Вятско-Камского междуречья. Свердловск: Изд-во Урал. ун-та, 1988. 128 с.

## АДВЕНТИВНЫЕ ВИДЫ РАСТЕНИЙ ВО ФЛОРЕ ПОС. КУЕДА И ЕГО ОКРЕСТНОСТЕЙ (ПЕРМСКИЙ КРАЙ)

Усанина В.А.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., профессор Овёсов С.А.**

Конец XX – начало XXI в. характеризуется не только ростом промышленной мощи, сельскохозяйственной деятельности, транспортных нагрузок, но и глобальными трансформациями экосистем и климатическими изменениями. Вследствие этого наблюдается интенсификация процессов инвазии чужеродных организмов в естественные биоценозы. Изучение вторжения чужеземных растений – одно из приоритетных направлений ботанических исследований и общемировая экологическая проблема, так как оно вызывает «флористическое загрязнение территории» [1]. Кроме того, инвазии агрессивных чуждых видов растений могут наносить значительный экономический ущерб и даже представлять опасность для здоровья людей. [2].

Одна из ключевых рекомендаций Стратегии по инвазионным видам в Европе – это инвентаризация заносных видов в регионах разного уровня. Так, в каждом регионе необходимо контролировать процесс расселения наиболее вредоносных чужеродных видов. Из-за высокой динамики адвентивного компонента и быстрого расселения некоторых видов актуальным является также установление потенциально инвазивных видов. Стоит отметить, что изучение инвазивной активности чужеродных видов растений проводилось на примере крупных административно-территориальных единиц [3; 4]. В свою очередь, информации по исследованиям, касающихся этой проблемы, на примере небольших населенных пунктов недостаточно.

По материалам научного гербария Пермского государственного национального исследовательского университета (PERM) нами установлено, что в 1970-е гг. активно проводились флористические исследования в пределах юга Пермского края, где расположен Куединский район и, в частности, пос. Куеда [5]. Несмотря на это, флора поселков и населенных пунктов начала изучаться относительно недавно, а адвентивный компонент и вовсе не подвергался научному рассмотрению.

Выбранная для исследования территория в силу ее географического положения обладает развитой сетью транспортных путей (как шоссейных, так и железнодорожных). Основными отраслями промышленности являются пищевая и нефтедобывающая. Эти факторы создают условия для адвентизации и последующей натурализации заносных видов растений. В течение трех лет, в летние периоды 2016–2018 гг. нами проводились полевые изыскания на территории пос. Куеда и его окрестностей в радиусе 5 км. На основании собранных материалов был составлен конспект флоры, который насчитывает 260 видов

сосудистых растений, относящихся к 54 семействам. При этом адвентивная фракция флоры представлена 73 видами растений, которые относятся к 25 семействам.

### Распределение адвентивных видов по времени, способу иммиграции и степени натурализации

По времени заноса группа ксенофитов разделена на 21 архефита и 36 кенофитов (неофитов) (табл. 1). По степени натурализации архефиты большей частью (17 видов, или 23,3% всего набора ксенофитов) представлены эпекофитами, широко распространившимися на подходящих для них нарушенных местообитаниях (среди них *Euphorbia helioscopia*, *Galega orientalis*). Оставшиеся 4 вида (5,5%) среди архефитов являются агриофитами, которые натурализовались и внедрились в состав природных сообществ.

Таблица

Состав адвентивной фракции флоры пос. Куеда

Группы видов способу и времени заноса		Группы видов по степени натурализации				
		Эфемерофиты	Колонофиты	Эпекофиты	Агриофиты	Всего (%)
Ксенофиты	Архефиты	-	-	17 (23,3)	4 (5,5)	<b>21</b> <b>(28,8)</b>
	Кенофиты	1 (1,4)	4 (5,5)	21 (28,7)	10 (13,7)	<b>36</b> <b>(49,3)</b>
Эргазиофигофиты	Архефиты	-	-	-	-	-
	Кенофиты	2 (2,7)	4 (5,5)	5 (6,85)	5 (6,85)	<b>16</b> <b>(21,9)</b>
<b>Всего</b>		<b>3</b> <b>(4,1)</b>	<b>8</b> <b>(11,0)</b>	<b>43</b> <b>(58,9)</b>	<b>19</b> <b>(26,0)</b>	<b>73</b> <b>(100)</b>

В отличие от архефитов, у кенофитов выделяются группы эфемерофитов и колонофитов. К числу эфемерофитов относится 1 кенофит, коим является *Salsola tragus*. Закрепившиеся в местах заноса, но далее не расселяющиеся колонофиты представлены 4 видами: *Chenopodium album*, *Bromus arvensis*, *Fagorium tataricum* и *Hordeum jubatum*. Наибольшим числом видов представлены эпекофиты (21 таксон, или 28,7%). Довольно высок среди кенофитов удельный вес агриофитов (их зафиксировано 10 видов, или 13,7%: в качестве примера можно привести *Lathyrus tuberosus*, *Plantago intermedia* и *Agropyron repens*).

Среди преднамеренно занесенных растений соотношение групп, выделяемых по степени натурализации, иное. Практически одинаковое число кенофитов (5, 5 и 4 таксона соответственно) относятся к агрио-, эпеко- и колонофитам. Также в группе эргазиофигофитов отмечены 2 эфемерофита (*Caragana arborescens* и *Mentha × piperita*). Архефитов нами зарегистрировано не было.

Таким образом, адвентивная фракция флоры пос. Куеда и его ближайших окрестностей насчитывает 73 вида сосудистых растений, входящих в состав 25 семейств. В отношении распределения адвентиков по способу иммиграции численное преимущество наблюдается у непреднамеренно занесенных видов (57 таксонов, или 78,1% общего числа). Большая часть аллохтонных видов (44 таксона, 60,3%) расселяется по нарушенным местообитаниям, образуя рудеральные и сегетальные фитоценозы. При этом насчитывается 19 видов (26,0%), натурализовавшихся в естественных сообществах и представляющих реальную опасность для видов аборигенной флоры.

### Библиографический список

1. Чичев А.В. Флористическое загрязнение Подмосковья // Состояние, перспективы изучения и проблемы охраны природных территорий Московской области. 1988. С. 69–70.
2. Виноградова Ю.К., Майоров С.Р., Хорун Л.В. Черная книга флоры Средней России: чужеродные виды растений в экосистемах Средней России: монография. М.: ГЕОС, 2010. 503 с.
3. Баранова О.Г., Бралгина Е.Н. Инвазионные растения во флоре Удмуртской Республики // Вестн. Удм. ун-та. 2015. Вып. 2. С. 31–26.

4. Абрамова Л.М., Голованов Я.М. Инвазивные растения Республики Башкортостан: «Черный список», библиография // Известия Уфимского научного центра РАН. 2016.

5. Усанина В.А. К флоре Куединского района Пермского края // Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии: материалы регион. с междунар. участием студ. науч. конф. Пермь, 2016. С. 49–51.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛУБНЕПОЧЕК ПРИ МИКРОКЛОНАЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ СОРТОВ ГЛАДИОЛУСА (*GLADIOLUS X HYBRIDUS* HORT.) СЕЛЕКЦИИ УЧЕБНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА ПГНИУ

Чемарова Т.Д.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.н.б., доцент Шибанова Н.Л.**

Одним из современных методов размножения растений является клональное микроразмножение, позволяющее круглогодично и в короткие сроки получать большое количество посадочного материала, с высокой эффективностью размножать редкие и плохо поддающиеся размножению в обычных условиях виды растений и единично полученные уникальные мутанты и гибридные экземпляры [1]. Среди растений, выращиваемых в открытом грунте, ведущее место принадлежит гладиолусу как наиболее декоративной цветочной культуре [2]. В работах по микроклональному размножению заслуживает внимания разработка способа, который может быть использован для повышения коэффициента размножения генетически стабильных и свободных от инфекций растений, в селекционной практике – для создания и улучшения уже известных сортов [3]. Цель данной работы – микроклональное размножение трех сортов *Gladiolus × hybridus* hort. – «Селенит» (413-С-18 Черткова, Шумихин), «Уралочка» (201-ОР-18 Черткова, Шумихин), «Седой Урал» (300-С-18 Черткова, Шумихин).

Исследования проводились в 2018 г. в лаборатории микроклонального размножения кафедры ботаники и генетики растений и в Учебном ботаническом саду Пермского государственного национального исследовательского университета (ПГНИУ). В качестве эксплантов использовались клубнепочки в количестве 120 шт.: 40 – «Селенит», 25 – «Уралочка», 55 – «Седой Урал». Стерилизация проводилась в 3 этапа: престерилизация – погружение экспланта в раствор нейтрального детергента на 40–60 мин. и промывка проточной водой в течение 10–15 мин.; стерилизация – погружение в 7% раствор гипохлорита натрия ("Белизна") на 15–20 мин. и в 96% этиловый спирт на 30–60 с.; постстерилизация – промывка в трех сменах стерилизованной дистиллированной воды. Экспланты высаживались на питательную среду Мурасиге и Скуга (MS) со стандартными минеральным составом, 2 или 3% сахарозой, 3% агар-агаром. Пробирки с питательной средой стерилизовали в автоклаве Sanyo MLS-3780 при давлении 1 атм. и температуре 120°C в течение 15 мин. Посадка проводилась в ламинар-боксе в стерильных условиях. Экспланты выращивались в климатической камере с периодом освещения 14/10, при температуре +20 ± 2°C. Растения, которые были получены в культуре *in vitro*, были перенесены в Учебный ботанический сад ПГНИУ, где выращивались в условиях открытого грунта. Статистическая обработка данных проводилась с использованием стандартного пакета анализа Microsoft Office Excel. Различия по критерию Фишера считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Микроклональное размножение гладиолуса включает несколько этапов, первый из которых заключается в стерилизации эксплантов и их посадки на твердую питательную среду MS. В качестве основного стерилизующего агента использовался 7% раствор гипохлорита Na, экспозиция составляла 15 мин. Выход стерильной культуры определялся

как количество эксплантов без признаков контаминации к общему их числу. Через 7–14 дней после посадки появляются признаки регенерации. Жизнеспособность рассчитывается как количество эксплантов с признаками регенерации от общего числа стерильного материала (таблица).

Таблица

Процент выхода стерильной культуры гладиолуса и жизнеспособных эксплантов на твердой питательной среде Мурасиге и Скуга (MS)

Сорта Варианты среды	«Селенит»	«Уралочка»	«Седой Урал»
1	75/75	40/40	36/36
2	63/38	60/40	100/100
3	75/75	40/40	73/45
4	75/75	60/20	100/64
5	75/63	20/0	91/82

Примечания: стерильность культуры / жизнеспособность эксплантов;

1 – MS + ИУК 0,5 мг/л + тиамин 0,1 мг/л + пиридоксин 0,5 мг/л + никотиновая кислота 0,5 мг/л; 2 – MS + НУК 0,5 мг/л + тиамин 0,1 мг/л; 3 – MS + 6-БАП 0,5 мг/л + ИУК 1 мг/л + тиамин 0,1 мг/л + пиридоксин 0,5 мг/л + никотиновая кислота 0,5 мг/л; 4 – MS + 6-БАП 2 мг/л + НУК 1 мг/л + тиамин 0,1 мг/л + пиридоксин 0,5 мг/л + никотиновая кислота 0,5 мг/л; 5 – MS без регуляторов роста и витаминов

Исходя из данных, представленных в таблице, можно сделать заключение, что самый высокий процент выхода стерильной культуры отмечается у сорта «Седой Урал» – 100. Для введения в культуру *in vitro* можно рекомендовать все варианты среды, кроме первого ( $p = 0,00$ ,  $p < 0,05$ ). Для сорта «Селенит» средний процент стерильной культуры составил 72,6, могут быть использованы все варианты среды ( $p = 1,00$ ,  $p < 0,05$ ). Самый низкий процент стерильной культуры отмечается у сорта «Уралочка», он варьирует от 20 до 60 ( $p = 0,56$ ,  $p < 0,05$ ).

Установлено, что самый высокий процент выхода жизнеспособных эксплантов отмечается у сорта "Седой Урал" на втором варианте среды – 100. Для получения жизнеспособных эксплантов у сорта «Селенит» могут быть использованы все варианты среды, кроме второго, так как между ними нет достоверных различий ( $p = 0,58$ ,  $p < 0,05$ ). Для сорта «Уралочка» подходят первые три варианта среды ( $p = 1,00$ ,  $p < 0,05$ ).

Растения, полученные в культуре *in vitro*, были перенесены в условия открытого грунта Учебного ботанического сада ПГНИУ. Выход адаптированных растений составил 80%.

#### Библиографический список

1. Бабикова А.В., Горпеченко Т.Ю., Журавлев Ю.Н. Растение как объект биотехнологий // Комаровские чтения. 2007. Вып. 4. С. 184–211.
2. Денисова С.Г., Реут А.А. Влияние регуляторов роста на эффективность вегетативного размножения гладиолусов // Научный диалог: молодой ученый. Раздел IV. Биология. Уфа, 2018. С. 20–22.
3. Способ микрклонального размножения гладиолуса / Гапоненко А.К., Абукамель А.А., Бабаева Сима Ага Гусейн; Пат. 2180165 Рос. Федерация; опубл. 2002.

# АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ДНК ЗАПАДНОЙ РАСЫ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ (*LARIX SIBIRICA* LEDEB.) НА УРАЛЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ISSR-МЕТОДА

Чертов Н.В.<sup>1</sup>, Васильева Ю.С.<sup>1</sup>, Пришнивская Я.В.<sup>1,2</sup>, Жуланов А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> Естественнаучный институт Пермского государственного национального исследовательского университета, г. Пермь, Россия.

Являясь действенным стабилизатором биосферы, леса способствуют её устойчивому существованию. К тому же леса – это основной источник древесных растительных ресурсов для человека. Из этого следует, что мониторинг состояния лесных генетических ресурсов, и оценка генетического разнообразия лесных насаждений с использованием методов анализа ДНК является одним из основных направлений развития биотехнологий. Одной из важнейших задач популяционной биологии является изучение генетического разнообразия и внутривидовой дифференциации лесообразующих видов хвойных, в том числе и видов рода *Larix*, имеющих важное биосферное и ресурсное значение [1].

Объектами исследований являлись пятнадцать выборок *L. sibirica* расположенные на Урале. Пять располагаются на Южном Урале: Kar, Ir, VS - из Челябинской области и Kul, Zil из респ. Башкортостан. Пять – на Северном Урале: Tul, Ish, Krv, Bnd, Gn (Пермский край). И пять выборок со Среднего Урала: Kch, Bil – из Свердловской области и Pol, Osa, Sks – из Пермского края.

Для молекулярно-генетического анализа *L. sibirica* был избран ISSR-метод (Inter Simple Sequence Repeats) или межмикросателлитный анализ полиморфизма ДНК. Анализ проводили по стандартной методике [2]. Для описания генетического разнообразия популяций *L. sibirica* были использованы следующие параметры: доля полиморфных локусов ( $P_{95}$ ), эффективное ( $n_e$ ) и абсолютное число аллелей ( $n_a$ ), ожидаемая гетерозиготность ( $He$ ) [3].

Было выявлено 138 ISSR-маркера, из которых 136 оказались полиморфными. Доля полиморфных локусов на общую выборку составила 0,985. Этот показатель оказался наибольшим в выборке Zil произрастающей на плато Зилаир республики Башкортостан ( $P_{95} = 0,943$ ), а наименьшим – в выборке Pol ( $P_{95} = 0,747$ ), разница между показателями достоверна по критерию Фишера. Ожидаемая гетерозиготность ( $He$ ) на общую выборку *L. sibirica* составила 0,185. Данный показатель наибольший в выборке Bil ( $He = 0,219$ ), а минимальный – в выборках Tul и Pol ( $He = 0,153$ ). Наибольшее значение абсолютного и эффективного числа аллелей отмечено в выборке Bil ( $n_a = 1,370$ ;  $n_e = 1,373$ ). Наименьшее значение абсолютного числа аллелей наблюдается в выборке Pol ( $n_a = 1,101$ ), а эффективного числа аллелей в выборке Tul ( $n_e = 1,258$ ). Достоверных различий между наибольшими и наименьшими значениями этих показателей обнаружено не было. Так же нами было обнаружено 3 уникальных ISSR-маркёра, по одному в выборках Zil, Bnd и Kch. При сопоставлении полученных показателей генетического разнообразия с отмеченными в литературе, для изученных популяций лиственницы сибирской на Урале характерен высокий уровень генетического разнообразия по сравнению с популяциями, произрастающими в других регионах страны [4, 5].

Также нами был проведён анализ параметров генетического разнообразия трёх групп выборок, из различных районов уральского региона: Северный Урал, Средний Урал и Южный Урал представленных в таблице.

Показатели генетического разнообразия трёх групп выборок *L. sibirica* на основании полиморфизма ISSR-маркеров

Выборки	$H_E$	$n_a$	$n_e$	$P_{95}$
Северный Урал	0,262	1,210	1,436	0,958
Средний Урал	0,225	1,319	1,360	0,950
Южный Урал	0,239	1,435	1,381	0,961

Примечание.  $H_E$  – ожидаемая гетерозиготность;  $n_a$  – абсолютное число аллелей на локус;  $n_e$  – эффективное число аллелей на локус;  $P_{95}$  – доля полиморфных локусов

Доля полиморфных локусов оказалась наибольшей в выборках Южного Урала ( $P_{95} = 0,961$ ), а наименьшей – на Среднем Урале ( $P_{95} = 0,950$ ). Ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) была наибольшей в группе выборок Северного Урала ( $H_e = 0,262$ ), а минимальный – так же на Среднем Урале ( $H_e = 0,225$ ). Так как достоверных различий между показателями по трем группам обнаружено не было, можно предположить, что генетическое разнообразие среди изученных групп выборок не отличается.

Таким образом, параметры генетического разнообразия в изученных выборках имеют высокие значения. Самыми разнообразными выборками оказались выборки Zil и Vil, а наименее разнообразными Pol и Tul. Всего было обнаружено 3 уникальных ISSR-маркера, по одному в выборках Zil, Vnd и Kch. Выборки из всех трёх регионов Урала имеют примерно одинаковый уровень генетического разнообразия.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00348\18*

#### Библиографический список

- 1) Ефремов С.П. Биоразнообразие лиственниц Азиатской России / отв. ред. С.П. Ефремов, Л.И. Милютин. Новосибирск: Гео, 2010. 159 с.
- 2) Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. Vol. 20. P. 176–183.
- 3) Nei M. Molecular Evolutionary Genetics. New York: Columbia University Press, 1987. 512 p.
- 4) Популяционно-генетический анализ лиственниц Сибири и Дальнего Востока / А.П. Абаимов, Ю.Н. Журавлев, Е.Н. Муратова и др. // Структурно-функциональная организация и динамика лесов: материалы Всерос. конф. Красноярск, 2004. С. 294–296.
- 5) Лисина А.Н. Генетическая изменчивость популяций лиственницы сибирской на основе данных ISSR-PCR анализа // Молодежь и наука: сб. материалов IX Всерос. науч.-техн. конф. [Электронный ресурс]. Красноярск, 2013. URL: <http://conf.sfu-kras.ru/sites/mn2013/section093.html> (дата обращения: 12.04.19).



# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ РОДА *PULSATILLA* MILL. ПЕРМСКОГО КРАЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ISSR-МЕТОДА

Шакирова А.Р.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н. Бельтюкова Н.Н.**

В настоящее время для сохранения генофондов редких видов растений активно используются молекулярно-генетические методы, основанные на анализе количественных характеристик генетического разнообразия популяций [1]. Молекулярно-генетический анализ ценопопуляций двух редких видов рода *Pulsatilla* Mill. позволит определить их адаптивный потенциал и осуществить эффективные меры по сохранению их генофондов.

В качестве объектов исследования выбраны ценопопуляции двух редких видов растений *Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz. и *Pulsatilla patens* (L.) Mill., расположенные на территории заказника УНБ «Предуралье» Кишертского района Пермского края и ООПТ «Закамский сосновый бор» г. Перми соответственно. Оба вида внесены в перечень животных, растений и грибов Красной книги Пермского края, состояние которых в природной среде требует особого внимания [2]. Цель исследований – проведение молекулярно-генетического анализа полиморфизма двух редких видов растений *P. flavescens* и *P. patens* Пермского края.

В каждой ценопопуляции были собраны листья с 30 растений генеративного возрастного периода. ДНК выделяли из 20 мг высушенных листьев по модифицированной методике [2]. Концентрацию ДНК и спектральные характеристики определяли с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 («Thermo Scientific», USA). Для молекулярно-генетического анализа *P. flavescens* и *P. patens* был избран ISSR-метод (Inter Simple Sequence Repeats) или межмикросателлитный анализ полиморфизма ДНК. Амплификацию проводили в термоциклере Gene Amp PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) по типичной для ISSR-метода программе [1]. Температура отжига в зависимости от G/C-состава праймеров варьировала от 54° до 64°С. Продукты амплификации разделяли электрофоретически в 1,7% агарозных гелях и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете в системе геледокументации Gel Doc XR (Bio-Rad, USA). Из 15 протестированных ISSR-праймеров были выявлены пять эффективных для анализа полиморфизма ДНК *P. flavescens* и *P. patens* (ISSR-1 (AC)<sub>8</sub>T, ISSR-3 (TG)<sub>8</sub>A, M1 (AC)<sub>8</sub>G, M27 (GA)<sub>8</sub>C, X11 (AGC)<sub>6</sub>G)).

Молекулярно-генетические исследования ценопопуляций *P. flavescens* и *P. patens* проведены в соответствии с рекомендациями С.В. Боронниковой [1]. При анализе фрагментов ДНК, амплифицированных в результате ПЦР, в изученной ценопопуляции *P. patens* было выявлено 67 амплифицированных фрагментов ДНК, из которых 31 ( $P_{95}=0,456$ ) были полиморфными. Число амплифицированных фрагментов ДНК *P. patens* варьировало в зависимости от праймера от 10 (X11) до 16 (ISSR1). В среднем при ISSR-анализе у этого вида один праймер инициировал синтез 13,4 фрагмента ДНК.

В изученной ценопопуляции *P. flavescens* было выявлено 64 амплифицированных фрагмента ДНК, из которых 30 ( $P_{95}=0,489$ ) были полиморфными. Число амплифицированных фрагментов ДНК *P. flavescens* варьировало в зависимости от праймера от 12 (X11) до 16 (ISSR1). В среднем при ISSR-анализе у *P. flavescens* один праймер инициировал синтез 12,8 фрагментов ДНК.

Ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) в ценопопуляциях *P. patens* и *P. flavescens* отличалась незначительно и составила 0,141 и 0,149 соответственно. Индекс разнообразия Шеннона в ценопопуляции *P. patens* составил 0,230, в ценопопуляции *P. flavescens* – 0,217.

Абсолютное число аллелей на локус ( $n_a$ ) в ценопопуляции *P. patens* составило 1,489, в ценопопуляции *P. flavescens* – 1,456. Эффективное число аллелей на локус ( $n_e$ ) в ценопопуляции *P. patens* равно 1,244, в ценопопуляции *P. flavescens* – 1,226. Таким образом, показатели генетического разнообразия выше в ценопопуляции *P. flavescens*. Генетическое расстояние между изученными видами составило 0,322 [4].

Таким образом, изученные ценопопуляции двух редких видов растений Пермского края *P. flavescens* и *P. patens* характеризуются низкими показателями генетического разнообразия, необходимо проведение молекулярно-генетических исследований большего числа ценопопуляций этих видов.

#### Библиографический список

1. Боронникова С.В. Молекулярно-генетический анализ и оценка состояния генофондов ресурсных видов растений Пермского края: монография / С.В. Боронникова. Перм. гос. нац. исслед. ун-т. Пермь, 2013. 239 с.

2. Красная книга Пермского края: научное издание / Мин-во природ. ресурсов, лесного хоз-ва и экологии Перм. края, Перм. гос. нац. исслед. ун-т, Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет; ред. М. А. Бакланова. Пермь: Алдари, 2018. 232 с.

3. Нечаева Ю.С., Бельтюкова Н.Н., Пришневская Я.В. и др. Оптимизация методики выделения ДНК некоторых хвойных видов растений Пермского края // Материалы междунар. конф. «Синтез знаний в естественных науках. Рудник будущего: проекты, технологии, оборудование». Пермь, 2011. С.278–282.

4. Nei M. Molecular evolutionary genetics. N.Y: Columbia Univ. press, 1987. – 512 p.

### ПОДБОР ЭФФЕКТИВНЫХ ISSR-ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ *PULSATILLA FLAVESCENS* (ZUCC.) JUZ. И *PULSATILLA PATENS* (L.) MILL.

Шакирова А.Р.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н. Бельтюкова Н.Н.**

Генетическое разнообразие видов является одним из важнейших параметров, определяющих устойчивость их популяций к антропогенным и природным факторам. Для характеристики генетического разнообразия гетерогенных природных популяций растений необходим молекулярно-генетический анализ их генофондов с использованием высоко полиморфных молекулярных маркеров. Наиболее популярны в исследованиях генофондов редких видов травянистых растений ISSR-маркеры (Inter Simple Sequence Repeats), выявляющие полиморфизм участков ДНК, заключенных между tandemно повторяющимися элементами – микросателлитами [1].

Одними из редких видов растений Республики Казахстан являются *Pulsatilla flavescens* (Zucc.) Juz. и *Pulsatilla patens* (L.) Mill. Виды внесены в Красную книгу Казахстана [2]. Цель исследований – выявление эффективных ISSR-праймеров для *P. flavescens* и *P. patens* Республики Казахстан для дальнейшего проведения молекулярно-генетических исследований.

Исследования проводились на материале, собранном на территории Республики Казахстан в 2018 г. В десяти ценопопуляциях редких видов растений *P. flavescens* и *P. patens*, расположенных на территории Павлодарской, Костанайской и Акмолинской

областей Республики Казахстан, были собраны образцы 300 растений генеративного возрастного состояния.

Выделение ДНК проводили по методике С. Роджерса [3], с небольшими модификациями, то есть в качестве сорбента использовали PVPP (polyvinylpolypyrrolidone). Навеска растительного материала составляла 20 мг. Концентрацию и качество ДНК определяли на приборе Spectrofotometr™ NanoDrop 2000 («Thermo scientific», USA) и выравнивали в пределах 5 нг/мкл.

Отбор эффективных ISSR-праймеров осуществлялся по выявлению наибольшего числа фрагментов, включая и полиморфные, на ISSR-спектре и воспроизводимости результатов ПЦР. Эффективность ISSR-праймеров рассчитывалась в соответствии со шкалой 1–5: от низкой (1) до высокой (5) [4].

Для полимеразной цепной реакции реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 2 единицы Tag-полимеразы («Силекс М», Россия); 2,5 мкл стандартного 10x буфера для ПЦР («Силекс М», Россия); 25 пМ праймера («Евроген», Россия); 2,5 mM MgCl<sub>2</sub> («Силекс М», Россия); 0,25 mM dNTP («Fermentas», Литва); 5 мкл тотальной ДНК.

Аmplификацию проводили в термоциклере MJ Mini-Cycler («Bio-Rad», USA) по следующей программе для ISSR-анализа: предварительная денатурация 94°C, 2 мин.; первые пять циклов 94°C, 20 сек.; температура отжига, 10 сек.; 72°C, 10 сек.; в последующих тридцати пяти циклах 94°C, 5 сек.; температура отжига, 5 сек.; 72°C, 5 сек. Последний цикл элонгации длился 2 мин. при 72°C. Температура отжига в зависимости от G/C состава праймеров варьировала от 56 до 64°C для ISSR-праймеров. В качестве отрицательного контроля (К-) в реакционную смесь для проверки чистоты реактивов добавляли вместо ДНК 5 мкл деионизированной воды. Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 1,7% агарозном геле в 1x TBE буфере, окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Для определения длины фрагментов ДНК использовали маркер молекулярной массы (100 bp + 1.2 + 1,5 + 2 + 3 Kb DNA Ladder); «ООО-СибЭнзим-М», Москва), определение длин фрагментов проводилось с использованием программы Quantity One («Bio-Rad», USA). Для проверки достоверности полученных спектров ДНК опыт повторяли не менее трех раз.

Для выявления эффективности были избраны 15 ISSR-праймеров с ди- и тринуклеотидным коровым мотивом с одним или двумя нуклеотидами в качестве якорей. Эти ISSR-праймеры наиболее часто используются для определения генетического разнообразия растений с использованием ISSR-фингерпринтинга [5]. Длина анализируемых ISSR-праймеров варьировала от 13 (X1) до 22 (ISSR9) нуклеотидов.

Каждый праймер индивидуально был проанализирован в ПЦР с тотальной ДНК каждого исследуемого вида. В результате амплификации в ПЦР с 15 анализируемыми ISSR-праймерами были получены фрагменты ДНК молекулярной массой от 180 до 2000 н.п. Число амплифицируемых фрагментов в зависимости от праймера варьировало от 6 (X9) до 23 (ISSR1).

Из 15 проанализированных ISSR-PCR праймеров с тотальной ДНК *P. flavescens* и *P. patens* 5 продемонстрировали высокую эффективность (5), так как выявили наибольшее число четко амплифицирующихся фрагментов ДНК (ISSR-1 (AC)<sub>8</sub>T, ISSR-3 (TG)<sub>8</sub>A, M1 (AC)<sub>8</sub>G, M27 (GA)<sub>8</sub>C, X11 (AGC)<sub>6</sub>G), шесть праймеров обнаружили среднюю (4) (M3 (AC)<sub>8</sub>CT, CR215 ((CA)<sub>6</sub>GT), ISSR4 ((TG)<sub>8</sub>GC), ISSR8 ((GAG)<sub>6</sub>C), X1 ((AGC)<sub>6</sub>G), CR216 ((GA)<sub>6</sub>GG), остальные праймеры показали невысокую (3 и ниже) эффективность (X9 ((ACC)<sub>6</sub>G), X10 ((AGC)<sub>6</sub>C), CR212 ((CT)<sub>8</sub>TG)).

Таким образом, для дальнейшего проведения молекулярно-генетического анализа полиморфизма ДНК *P. flavescens* и *P. patens* были отобраны следующие 5 праймеров, из которых четыре динуклеотидных (M1, M27, ISSR1, ISSR3), а один тринуклеотидный ISSR-праймер (X11 (AGC)<sub>6</sub>G). Отобранные эффективные праймеры позволят выявить генетическое разнообразие ценопопуляций *P. flavescens* и *P. patens* северной части Республики Казахстан.

*Работа выполнялась в рамках проекта грантового финансирования Министерства образования и науки Республики Казахстан на 2018-2020 гг. № AP05132458 «Молекулярно-генетический анализ генофондов популяций редких видов растений Северного Казахстана», номер государственной регистрации 0118PK00404.*

#### **Библиографический список**

1. Боронникова С.В. Молекулярно-генетический анализ и оценка состояния генофондов ресурсных видов растений Пермского края: монография. Пермь, 2013. 239 с.
2. Красная книга Казахстана. Астана: ТОО АртPrint XXI, 2014. Т. 2. Растения. 452 с.
3. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. 1985. Vol. 1, № 19. P. 69–76.
4. Календарь Р.Н., Боронникова С.В. Анализ молекулярно-генетического полиморфизма природных популяций редких видов растений Урала с помощью ретротранспозонов // Материалы 4 Моск. междунар. конгресса. М.: Изд-во РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2007. Ч. 2. С. 121.
5. Подбор эффективных ISSR-праймеров для редкого вида *Adonis wolgensis* Stev. / Н.Н. Бельтюкова и др. // Современные научные исследования и разработки. 2018. № 08(25). URL: <http://olimpiks.ru/zhurnal-sovremennyye-nauchnyye-issledovaniya-i-razrabotki>. [дата обращения: 15.09.2018].

**СЕКЦИЯ III**  
**ЗООЛОГИЯ**  
**СТРУКТУРА ФАУНЫ ПАУКОВ (ARANEI)**  
**МОРДОВСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ЗАПОВЕДНИКА**

Агафонова О.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н. зав. кафедрой ПГНИУ Есюнин С.Л.**

Данные по фауны пауков республики Мордовия, весьма фрагментарны. В единственной обзорной работе по фауне пауков республики приведен список из 161 вида [1]. Основу этого списка (142 вида из 17 семейств), составляют пауки, собранные в Мордовском государственном заповеднике.

Нами была обработана коллекция, собранная Ручиным А.Б. и Семишиным Г.Б. В результате мы обнаружили 56 видов новых для фауны заповедника. Наибольшим таксономическим разнообразием отличаются сем. Linyphiidae, Lycosidae и Gnaphosidae (табл. 1).

Таблица 1

Структура и таксономическое разнообразие локальных фаун пауков лесной полосы Русской равнины

	Мордовски заповедник	УНБ Предуралье	заповедник Кивач	Нижнесвирский заповедник
Araneidae	8/5	2-/10	17/10	26/10
Anyphaenidae	1/1	-	1/1	-
Clubionidae	7/2	9/1	3/2	9/4
Dictynidae	2/2	9/6	3/2	9/4
Gnaphosidae	23/7	21/8	19/6	32/8
Hahniidae	4/3	5/2	4/2	6/3
Linyphiidae	62/39	129/76	108/52	188/81
Liocranidae+ Phrurolitidae	6/3	5/1	3/2	9/4
Lycosidae	32/9	29/9	25/8	37/9
Mimetidae	1/1	2/1	2/1	2/1
Miturgidae	2/1	2/1	2/1	4/1
Philodromidae	5/3	13/3	5/2	9/3
Pisauridae	3/2	1/1	1/1	3/2
Salticidae	9/6	20/13	14/10	27/12
Tetragnathidae	5/3	8/3	8/3	12/3
Theridiidae	7/6	29/20	19/8	29/12
Theridiosomatidae	1/1	-	-	1/1
Thomisidae	16/5	19/5	9/3	19/5
Число семейств	23	20	21	21
родов	99	160	114	160
видов	198	321	248	423

Примечание: В числителе – число видов, в знаменателе – число родов.

Мы сравнили данные по фауне Мордовского заповедника с разнообразием пауков в трех локальных фаунах: заповедник «Кивач», республика Карелия [2], заповедник «Нижнесвирский», Ленинградская обл. [3], учебно-научная база «Предуралье», Пермский край [4].

Есюнин и Ефимик [5] считают, что для локальных фаун лесной полосы типичное видовое разнообразие составляет не менее 290 видов. Таким образом, хорошо исследованными являются фауны Нижнесвирского заповедника и УНБ Предуралье. Известное видовое разнообразие пауков Мордовского заповедника почти в два раза ниже такового в Нижнесвирском заповеднике, и в более чем полтора раза ниже, чем в УНБ Предуралье. По всей видимости, можно констатировать, что степень изученности фауны пауков Мордовского заповедника на данный момент составляет не более 50%.

Семейство Linyphiidae имеет наибольшее таксономическое разнообразие среди остальных семейств в каждой из локальных фаун, в среднем составляя около 40% от общего числа видов. Кроме этого, обширно представлены такие семейства, как Lycosidae и Gnaphosidae, которые имеют примерно одинаковое процентное содержание. Семейства Salticidae и Theridiidae наиболее широко представлены в каждой из локальных фаун, исключая Мордовский заповедник. Остальные семейства, судя по данным, не отличаются высоким видовым богатством (от 8% и ниже).

### Библиографический список

1. Mikhailov K.G., Trushina E.E. On the spider fauna (Arachnidae: Aranei) of the Mordovian State Reserve, Russia: preliminary results // *Arthropoda Selecta*. 2013. P. 189-190.
2. Целлариус А.Ю. Пауки заповедника «Кивач» // *Флора и фауна заповедников*. 1993. Вып. 51. 30 с.
3. Олигер Т.И. Аннотированный перечень пауков (Aranei) Нижне-Свирского заповедника. Лодейное Поле, 2016. 84 с.
4. Власов П.И., Есюнин С.Л., Полянин А.Б., Шулаева Е.А. Фауна пауков учебно-научной базы «Предуралье» (Пермский край): 40 лет исследований. // *Вестник Пермского университета*. 2011. Вып. 3-4. С. 16-23.
5. Есюнин С.Л., Ефимик В.Е. Разнообразие фауны пауков Урала: географическая изменчивость // *Успехи современной биологии*. 1994. Т. 114. Вып. 4. С 415-427.

## НОВЫЕ ДАННЫЕ О РУКОКРЫЛЫХ ЗАКАЗНИКА «ПРЕДУРАЛЬЕ»

Бакланова А.С.

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*

*Научный руководитель: к.б.н., доцент Демидова М.И.*

Рукокрылые представляют собой важный в биоценоотическом отношении, но относительно малоизученный объект.

В комплексном ландшафтном заказнике «Предуралье» по данным на 1999 г. зарегистрировано 4 вида (*Plecotus auritus* L., *Myotis dasycneme* Boie, *M. daubentoni* Kuhl, *Nyctalus noctula* Schreber) [3]. По последним данным на 2003 г., А.С. Белоусовым было отмечено 5 видов (*Vespertilio murinus* L., *Plecotus auritus* L., *Eptesicus nilsoni* Keyserling et Blasius, *Myotis dasycneme* Boie, *M. mystacinus* Kuhl) [1]. Уточнение видового состава и получение новых данных по экологии рукокрылых в практическом плане может быть использовано для планирования природоохранных мероприятий и при проведении учебной полевой практики студентов.

Целью работы являлось уточнение видового состава рукокрылых в заказнике, изучение их активности и относительный учет численности.

#### Материалы и методы

Рукокрылые на территории заказника «Предуралье» исследовались с 9 июля 2018 г. по 8 августа 2018 г. Отлов рукокрылых проводился паутинными сетями (две паутинные сети стояли в течение 30 ночей) и мобильной ловушкой [2] (отработано около 25 часов отлова). Проведен учет активности рукокрылых в сумеречно-ночное время в пойме реки Сылвы и маршрутный учет на надпойменной террасе долины реки.

#### Результаты и их обсуждение

При неоднократных обследованиях мест возможных дневок – чердаков жилых домов и административного корпуса, деревьев с отходящей от ствола корой, полостей в скале «Белый клык» - на территории учебной базы рукокрылых не было обнаружено.

С помощью паутинной сети, выставленной на границе дендросада и открытого пространства, было отловлено 4 особи (*Vespertilio murinus* L., *Plecotus auritus* L., *Eptesicus nilssoni* Keyserling et Blasius). В сеть, поставленную в дендросаду, попала единичная особь *Myotis brandti* Eversmann. Мобильной ловушкой было поймано 4 особи, преимущественно *Myotis dasycneme* Boie и единично *M. mystacinus* Kuhl.

Большинство пойманных особей (77 %) являются взрослыми самцами. Самки не были пойманы, возможно, они менее активны.

Всего отловлено и осмотрено 9 особей, которые отнесены к 6 видам (табл.1). Наибольшую долю в отловах (33,3%) составила прудовая ночница.

Таблица 1.

Видовой и половозрастной состав рукокрылых, отловленных на территории УНБ «Предуралье»

Вид	Возраст	N	♂♂	♀♀
<i>Myotis brandti</i>	ad	1	1	-
<i>Myotis mystacinus</i>	ad	1	1	-
<i>Vespertilio murinus</i>	sad	1	1	-
<i>Plecotus auritus</i>	ad	1	1	-
<i>Eptesicus nilssoni</i>	ad	2	2	-
<i>Myotis dasycneme</i>	ad	2	2	-
	sad	1	1	-

Пик ночной активности рукокрылых по нашим наблюдениям приходится на первые сумеречные часы (рис.1). Пик массового лета ночных насекомых, судя по наблюдениям специалистов кафедры зоологии беспозвоночных ПГНИУ с использованием световой ловушки, приходится на более позднее время - с 12 часов до часа ночи (М.Я. Лямин, устное сообщение). Повышенная активность в начале ночи, возможно, объясняется длительным перерывом в кормежке во время дневки.

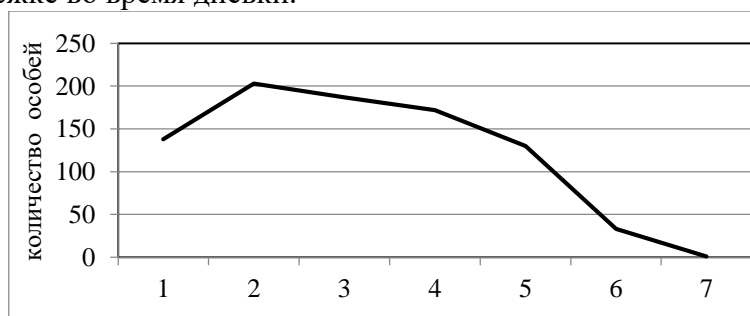


Рисунок 1. Активность рукокрылых на фоне мишени 31 июля - 1 августа 2018 г. Цифрами обозначено время исследования: 1 – 22:15-22:45; 2 – 23:15-23:45; 3 – 00:15-00:45; 4 – 1:15-1:45; 5 – 2:15-2:45; 6 – 3:15-3:45; 7 – 4:15-4:45

Максимальная температура (+19°C) зарегистрирована в ночь с первого на второе августа, Минимальная температура (+12°C) - в ночь с 4 на 5 августа. Изменение характера ночной активности показано на рисунке 2. Можно отметить, что с понижением температуры пики активности становятся более кратковременными и наблюдается два пика активности в течение ночи.

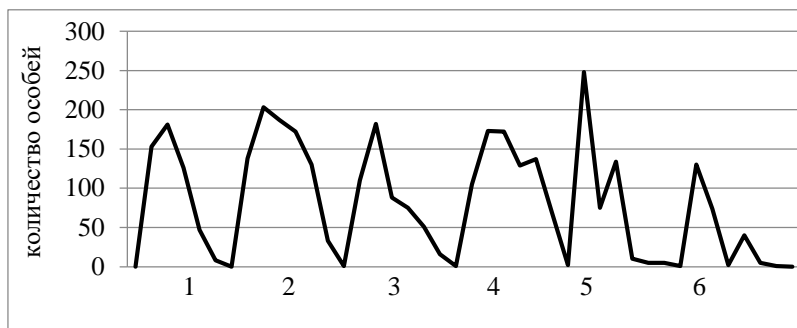


Рисунок 2. Динамика активности рукокрылых на фоне мишени 30 июля – 5 августа 2018 г. Цифрами обозначены даты исследования в ночное время с 22 до 5 часов: 1 – 30-31.07; 2 – 31.07-1.08.; 3 – 1-2.08.; 4 – 2-3.08.; 5 – 3-4.08; 6 – 4-5.08.

По итогам маршрутного учета на 300-метровой трансекте в пределах надпойменной террасы встречаемость рукокрылых была низкой (0,3 особи на 100м), что обусловлено немногочисленностью рукокрылых на территории базы.

#### Библиографический список

1. Белоусов А.С. Рукокрылые Пермской области (современные данные). Дипломная работа. – Пермь. 2005. - с. 92.
2. Борисенко А.В. 1999. Мобильная ловушка для отлова рукокрылых. – *Plecotus et al.* 2: 10-19.
3. Животный мир заказника «Предуралье» (позвоночные): учеб.-метод. пособие / Перм. ун-т; авт.-сост.: А. И. Шепель, Е. А. Зиновьев. Пермь, 1999. 144 с.

## БИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ ОБЫКНОВЕННОЙ БЕЛКИ (*SCIURUS VULGARIS*) В УСЛОВИЯХ ООПТ «ЧЕРНЯЕВСКИЙ ЛЕС» И ГОРОДА ПЕРМЬ

Беляев К.А.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Костицына Н.В.**

На данный момент процессы урбанизации продолжают во всем мире. В настоящее время эти процессы называют главной угрозой биоразнообразию. В результате такого «наступления» городов на дикую природу многие виды животных и растений погибают, но некоторые адаптируются и становятся синантропными видами. Этому способствуют различные городские зеленые насаждения, которые могут служить укрытием и «переходной» формой местообитания. Изучение адаптирующихся видов становится актуальной темой для исследований, так как это может помочь снизить темпы сокращения биоразнообразия из-за роста городов. Полученные результаты можно использовать для научно-просветительской



деятельности среди населения, что способствует сохранению синантропных видов. Объектом данного исследования была выбрана обыкновенная белка (*Sciurus vulgaris*).

Целью данного исследования было выяснить поведенческие адаптации зверька к условиям города и особенности его распространения на данной территории.

Наблюдения за белками проводили на ООПТ «Черняевский лес». Это крупнейший лесной массив в черте города площадью 632 га. Данный лесопарк является сохранившейся частью прежнего лесного массива, который был на месте города Пермь, в связи с чем он представляет собой сохранившийся в наиболее близком к естественному состоянию лесной массив в черте города Перми. На ООПТ представлены 15 типов леса: сосновые, еловые, березовые и ольховые [1]. Территория самого города в целом имеет множество различных скверов и парков, помимо этого имеются другие естественные сохранившиеся участки леса, находящиеся в оврагах, логах по берегам малых рек: Данилиха, Егошиха, Ива, Малая Язовая.

Для выявления поведенческих особенностей проводили наблюдения на заранее выбранных площадках. Наблюдения вели в разное время, при различных погодных условиях. Отмечали особенности взаимодействия белок с человеком и друг с другом, а так же проследили суточную активность зверьков и используемые корма. Для определения расселения белок на территории города провели интернет опрос среди местного населения. Так же полученные результаты сравнивали с результатами зарубежных работ по сходной тематике.

В ходе исследований на ООПТ «Черняевский лес» были установлены некоторые особенности поведения белок. Ранее отмечали, что белки предпочитают «передвигаться верхами», а в местах, где зверьков мало преследуют, они при виде человека проявляют животное любопытство, и могут близко подпускать к себе человека [2]. Белки в лесопарке не только близко подпускают людей, но и сами активно подбегают к человеку и выпрашивают корм. В поисках еды зверьки часто залазят на человека, обнюхивают и обыскивают карманы. Суточная активность зверьков в различные сезоны (рис. 1) совпадает с их активностью в лесопарках европейских городов [2, 3].

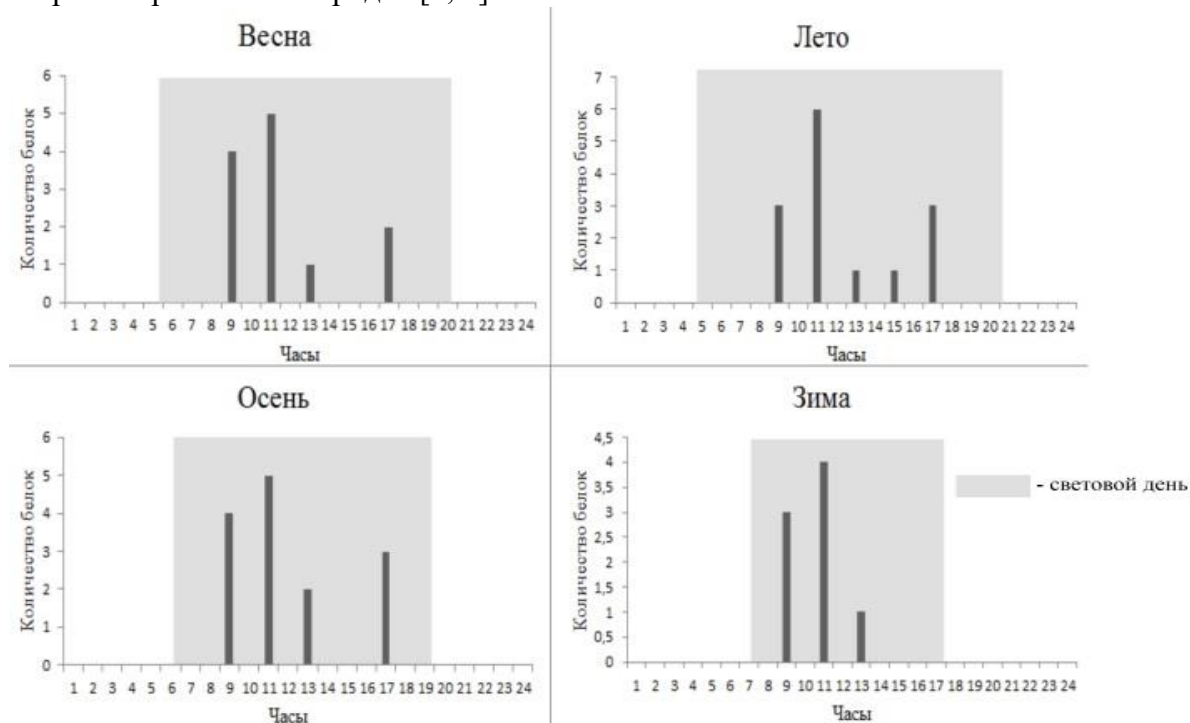


Рис.1. Суточная активность белок по сезонам

При обработке результатов опроса населения была составлена карта со всеми местами встреч с белками (рис. 2). Как можно увидеть, нет явной закономерности в распространении белок по территории города. Опираясь на экологические особенности жизни белок, можно предположить, что зверьки появляются в городе вдали от насаждений в период миграции,

при этом небольшие скверы и парки могут служить временным убежищем в этот период. В больших участках леса вдоль малых рек белки могут обустраивать себе постоянные гнёзда.



Рис. 2. Места встреч с белками в городе

### Библиографический список

Бузмаков С.А., Кувшинская Л. В., Жекин А. В., Кулаков С. А., Гатина Е. Л., Зайцев А. А. Оценка современного состояния особо охраняемой природной территории «Черняевский лесопарк г. Перми» // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2009. Т. 11. №1 С. 408–413.

Огнев С.И. Звери СССР и прилежащих стран. М., Л.: Изд-во АН СССР. 1940. Т. 4. 353 с.

Babińska-Werka J., Żółw M. Urban Populations of the Red Squirrel (*Sciurus vulgaris*) in Warsaw // Ann. Zool. Fennici. 2008. №45. С. 270–276.

## ФАУНА И ЭКОЛОГИЯ НОЧНЫХ РАЗНОУСЫХ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ (LEPIDOPTERA, HETEROCERA) ТРОИЦКОГО ЗАКАЗНИКА

Булычева Е.Г.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: доцент, к.б.н. Лямин М.Я.**

Работа проводилась на территории Государственного Троицкого комплексного заказника, расположенного на границе лесостепной и степной зон Южного Зауралья (Троицкий район, Челябинской области). Исследования проводились в период с 7 июня по 11 июля 2018 года. Целью данной работы было изучение видового состава, структуры населения и динамики лёта ночных разноусых чешуекрылых. Сбор чешуекрылых проводился в ночное время, с привлечением их на свет ртутно-кварцевой лампы (ДРЛ250). Материал собирался руками или пинцетом в морилку, а после замаривания, раскладывался на ватные матрасики, с указанием на этикетке даты сбора, показаний термометра и психрометра, а также особенностей погоды (ветер, осадки). Для определения материала использовался электронный определитель чешуекрылых Европы [1], а также атлас-определитель чешуекрылых Омской области [2]. Кроме того использовался справочник «Чешуекрылые Ильменского заповедника» [3].

В результате проведенного исследования было отловлено 5903 экземпляра чешуекрылых принадлежащих к 254 видам из 11 семейств (Таблица). Как видно из таблицы доминантами как по количеству экземпляров, так и по числу видов являются семейства Пяденицы (Geometridae) и Совки (Noctuidae). Причем по количеству видов лидируют Совки,

а по количеству экземпляров – Пяденицы. Также внутри некоторых семейств можно выявить доминантные виды, принимая за порог доминирования 25% от общего количества экземпляров. В семействе Бражников (Sphingidae) доминантами являются два вида: *Mimas tiliae* (40%) и *Deilephila porcellus* (32%). Среди Коконопрядов (Lasiocampidae) – это *Odonestis pruni* (40%). В семействе Древооточцев (Cossidae) явным доминантом является *Phragmataecia castaneae* (83%). Из Хохлаток (Notodontidae) преобладает *Notodonta dromedarius* (63%). Из семейства Волнянок доминировали представители двух видов – *Calliteara pudibunda* и *Leucoma salicis* (оба по 48%). Среди Медведиц (Arctiidae) также можно выделить два доминирующих вида – *Diacrisia sannio* (55%) и *Spilosoma urticae* (30%). В семействе Серпокрылок (Drepanidae) преобладает вид *Drepana falcataria* (69%), а среди Огнёвок (Pyrallidae) – *Sitochroa verticalis* (37%).

Таблица

Видовой состав и структура населения разноусых чешуекрылых Троицкого заказника

Семейство	Количество видов	%	Количество экземпляров	%
Nolidae (Челночницы)	1	0,39	91	1,54
Cossidae (Древооточцы)	2	0,79	75	1,27
Lymantriidae (Волнянки)	4	1,57	103	1,74
Drepanidae (Серпокрылки)	5	1,97	96	1,63
Lasiocampidae (Коконопряды)	7	2,76	123	2,08
Sphingidae (Бражники)	10	3,94	499	8,45
Arctiidae (Медведицы)	11	4,33	446	7,56
Notodontidae (Хохлатки)	14	5,51	451	7,64
Pyrallidae (Огневки)	18	7,09	206	3,49
Geometridae (Пяденицы)	70	27,56	2128	36,05
Noctuidae (Совки)	112	44,09	1685	28,54
Итого:	254	100	5903	100

На рисунке представлена сезонная динамика лета чешуекрылых из двух, наиболее массовых семейств – Noctuidae и Geometridae. Как видно из диаграммы, наблюдается рост численности чешуекрылых к концу третьей декады июня, что связано с благоприятными условиями для лета имаго, а также общим оптимальным температурным режимом среды для развития преимагинальных стадий развития представителей этих семейств. Это способствует более быстрым срокам развития и, как следствие, более дружному и массовому вылету чешуекрылых. Так, например, 25 июня наблюдался массовый лет пядениц *Hypomecis roboraria*, *Scopula immorata*, *Scotopteryx coarctaria*, *Siona lineata* и *Hypomecis punctinalis*.

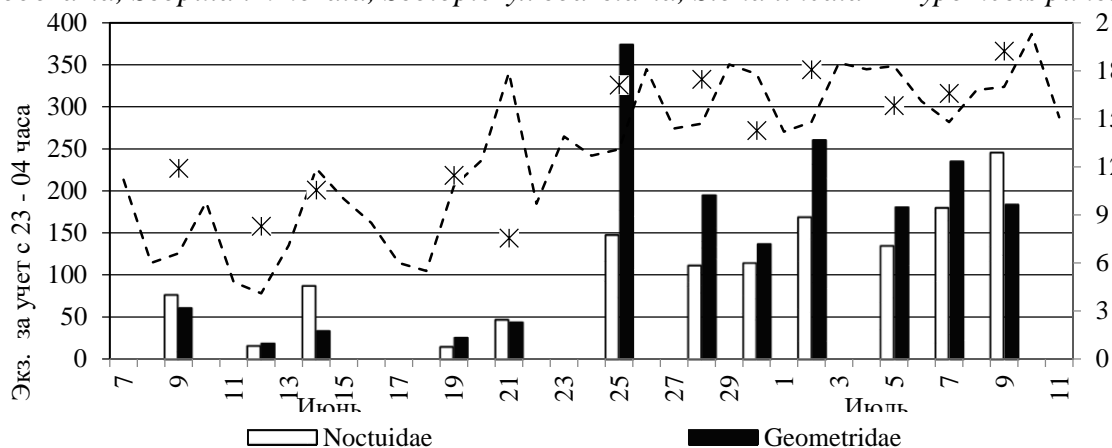


Рис. Сезонная динамика лёта представителей двух доминантных семейств (Noctuidae и Geometridae) (по данным полных ночных учетов).

### Библиографический список

1. Bestimmungshilfe für die in Europa nachgewiesenen Schmetterlingsarten / [Электронный ресурс] – URL: <http://www.lepiforum.de/lepiwiki.pl?Schmetterlingsfamilien> (дата обращения: 11.01.2019).
2. Князев С. А. Электронный атлас чешуекрылых (Lepidoptera) Омской области / [Электронный ресурс] – URL: <http://omflies.ru/index.htm> (дата обращения: 11.01.2019).
3. Ольшванг В. Н., Нуппонен К. Т., Лагунов А. В., Горбунов П. Ю. Чешуекрылые Ильменского заповедника. Екатеринбург: ИГЗ УрО РАН, 2004.

## ЭВОЛЮЦИЯ НЕО-XX/НЕО-ХУСИСТЕМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛА У САРАНЧОВЫХ СЕМЕЙСТВА PAMPHAGIDAE (ORTHOPTERA, ACRIDOIDEA)

Булэу О.Г.

*Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, Россия*

**Научный руководитель: д.б.н., профессор Бугров А.Г.**

По современным представлениям половые хромосомы возникли из пары гомологичных аутосом. Основным моментом этого превращения было подавление рекомбинации в данной паре. Это привело к тому, что прото-У хромосома начала накапливать мутации, перестройки и деградировать [1]. Мы проследили эволюцию У-хромосомы на примере оригинальной модели – саранчовых семейства Pamphagidae, распространённых в горных и пустынных ландшафтах Кавказа, Закавказья, Северной и Южной Африки, Центральной, Малой и Передней Азии. Ранее у нескольких видов этой группы были выявлены случаи изменения преобладающего  $X0♂/XX$  определения пола на нео- $XX♀/нео-ХУ♂$  в результате взаимной транслокации предковой Х-хромосомы с одной из аутосом [2]. Таким образом, Pamphagidae могут стать удобным модельным объектом для понимания возникновения структурных различий между исходными гомологами - XR-плечом нео-Х хромосомы и нео-У хромосомой, что и стало целью нашей работы.

Для достижения поставленной цели мы впервые исследовали кариотипические особенности 41 вида саранчовых Pamphagidae относящихся к трем подсемействам: Thrinchinae Stål, 1876, Pamphaginae Burmeister, 1840 и Porthetinae Bolívar, 1916. Сбор материала проводили в разные годы в России, Армении, Казахстане, Турции, Иране, Марокко и ЮАР. Давленные хромосомные препараты были приготовлены из семенников самцов согласно классической методике [3]. Препараты окрашивали методом С-дифференциальной сегментации хромосом [4] с небольшими модификациями. Микроскопический анализ был проведен в Центре микроскопических исследований СО РАН на микроскопе AXIOSKOP 2 Plus (Zeiss, ФРГ).

Цитогенетический анализ выявил исходный для Pamphagidae кариотип состоящий из  $19(♂)$  и  $20(♀)$  акроцентрических хромосом с  $X0♂/XX♀$  типом определения пола у 4 видов подсемейства Thrinchinae из Казахстана, Турции, России и Марокко, 14 видов подсемейства Pamphaginae из Марокко и 1 вида из Ирана. Все остальные представители подсемейства Thrinchinae (*Thrinchini*), Pamphaginae (*Tropidauchenini* и *Nocarodeini*), распространённые на территории Передней, Средней и Центральной Азии имеют другой тип хромосомного набора, состоящий из 16 акроцентрических аутосом и двух половых хромосом ( $2n♂=16+нео-ХУ$ ;  $2n♀=16+нео-XX$ ). Такой вариант хромосомного набора сформировался на основе стандартного для Pamphagidae кариотипа в результате Робертсоновской транслокации исходно акроцентрической Х-хромосомы с одной из акроцентрических аутосом. В этом

случае половые хромосомы у самца представлены метацентрической нео-Х и акроцентрической нео-У хромосомой. У видов из разных подсемейств с измененным кариотипом наблюдается различный уровень гомологии между ХR-плечом нео-Х хромосомы и его гомологом нео-У хромосомой. У представителей трибы *Thrinchini* и видов трибы *Tropidauchenini* (Pamphaginae) нео-У хромосома по длине равна своему гомологу - ХR-плечу нео-Х хромосомы. В профазе мейоза нео-У хромосома и ХR-плечо нео-Х хромосомы нормально конъюгируют и формируют бивалент с двумя, реже с тремя хиазмами. У видов трибы *Nocarodeini* (Pamphaginae) размер нео-У хромосомы значительно меньше гомологичного ей ХR-плеча нео-Х хромосомы. В профазе мейоза ХR-плечо и нео-У хромосома ассоциируют только дистальными участками и образуют одну хиазму. Анализ С-дифференциального окрашивания хромосом показал, что все исследованные нами виды Pamphagidae имеют прицентромерные блоки С-гетерохроматина на всех хромосомах. У видов с нео-ХУ♂/нео-ХХ♀ типом определения пола, нео-У хромосома в разных подсемействах имеет различную степень гетерохроматинизации. У видов *Thrinchini* нео-У хромосома имеет мелкий прицентромерный блок и один, два мелких интеркалярных блока, либо множественные мелкие глыбки гетерохроматина в прицентромерном районе. У видов *Tropidauchenini* в прицентромерном и интеркалярном районах нео-У хромосомы локализованы крупные С-позитивные блоки. У видов трибы *Nocarodeini* нео-У хромосома имеет средний прицентромерный блок и множественные рядом лежащие интеркалярные блоки среднего и мелкого размеров, которые на конденсированной стадии нео-У-хромосомы могут сливаться в один большой блок.

Итак, мы выявили различные стадии структурной гомологии нео-Х и нео-У хромосом и гетерохроматинизации нео-У хромосом. У видов трибы *Thrinchini* (*Thrinchinae*) слияние Х хромосомы с одной из аутосом, вероятно произошло относительно недавно, на что указывает сходный размер нео-У хромосомы с её гомологом и слабая гетерохроматинизация прицентромерного района нео-У хромосомы. В пользу этого предположение говорит и то, что в этой группе видов были найдены виды как с Х0/ХХ, так и с нео-ХХ/нео-ХУ типами определения пола. У видов трибы *Nocarodeini* (Pamphaginae), нео-У хромосома демонстрирует продвинутую стадию гетероморфизма, она значительно меньше своего гомолога, а районы гетерохроматина занимают практически всю ее длину. Все исследованные нами виды этой группы имеют нео-ХХ/нео-ХУ тип определения пола. Выявленные различия в эволюции У-хромосомы у видов триб *Thrinchinae* (*Asiotmethis* и *Glyphotmethis*) и *Nocarodeini* могут говорить о независимых путях и времени возникновения У-хромосомы в этих группах. Анализ географического распространения Pamphagidae с Х0♂/ХХ и нео-ХУ♂/нео-ХХ♀ типами определением пола позволяет предположить, что эволюционные события, приведшие к трансформации исходного определения пола (Х0♂/ХХ), произошли на территории Западной Азии. В других частях ареала Pamphagidae (Северная и Южная Африка, Европа) распространены группы с исходным для этой группы Х0♂/ХХ♀ определением пола.

#### Библиографический список

1. Charlesworth D., Charlesworth B., Marais G. Steps in the evolution of heteromorphic sex chromosomes // *Heredity*. 2005. Vol. 95 (1) P. 118–128.
2. Bugrov, A., Grozeva, S. Neo-XY chromosome sex determination in four species of the pamphagid grasshoppers (Orthoptera, Acridoidea, Pamphagidae) from Bulgaria // *Caryologia*. 1998. – Vol. 51 (2) P. 115–121.
3. Дарлингтон С.Д. Хромосомы: методы работы / С.Д. Дарлингтон, Л.Ф. Ла Кур. –М.: Атомиздат, 1980. – 216 с.
4. Sumner, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin // *Exp. Cell Res.* 1972. Vol. 75. P. 304-306.

# ВЗАИМОСВЯЗЬ ВНЕШНИХ ТЕМПЕРАТУР С ТЕМПЕРАТУРАМИ РАЗЛИЧНЫХ УЧАСТКОВ ТЕЛА У РЕПТИЛИЙ (НА ПРИМЕРЕ ОБЫКНОВЕННОЙ ГАДЮКИ)

Галиулин Д.М., Четанов Н.А.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

Общеизвестно, что рептилии – эктотермные животные, температура их тела изменчива, зависит от состояния окружающей среды [3], однако, как было доказано, отнюдь не всегда совпадает с ней. Эта частичная независимость может достигаться за счет физиологических или поведенческих температурных адаптаций. Однако данные адаптации пусть и обеспечивают способность рептилий к регуляции собственной температуры, но обладают при этом значительной инерцией и их влияние на внутреннюю температуру вторично. Соответственно, в первую очередь географическое распространение и биотопическая приуроченность тех или иных видов пресмыкающихся будет связана с микроклиматическими условиями среды [1]. Наиболее значимыми факторами среды традиционно считаются температура субстрата и приземного воздуха [2].

Нами была предпринята попытка оценить уровень влияния этих факторов на температуру различных участков тела рептилий на примере обыкновенной гадюки *Vipera berus* (Linnaeus, 1758).

## Материал и методика

Были использованы данные по 67 самкам обыкновенной гадюки черной морфы из Камского Предуралья. К чёрной морфе мы относим змей чёрного цвета с иногда проглядывающим на спине рисунком. Половой дихроматизм не учитывался.

Учитывались рептилии примерно с равными размерными характеристиками, сходным физиологическим статусом (не беременные, не переваривающие пищу), не спаривающиеся, отловленные при похожих погодных условиях (отсутствие осадков), в период типичной активности.

Температура тела рептилий, субстрата на котором они находились и температура приземного воздуха на высоте 1-3 см измерялась термистором МТ-54, отградуированным по электронному термометру Checktemp с ценой деления 0,1°C в течение первых 5 минут с момента поимки в восьми точках тела: снаружи – на поверхностях брюха (примерно на середине тела), спины (на этом же уровне), пилеуса, горла, верхней и нижней поверхностях хвоста и внутри – в начальном отделе пищевода и клоаке.

При статистической обработке материала использовались следующие методы.

Для характеристики выборок применялись стандартные процедуры описательной статистики.

Попарное сравнение проводилось с использованием критерия Шеффе.

Для оценки взаимосвязи переменных использовался коэффициент корреляции Пирсона.

В работе используются следующие условные обозначения:

$n$  – объем выборочной совокупности;

$M \pm m$  – средняя арифметическая из суммы всех вариант выборки и ее ошибка;

$CV$  – коэффициент вариации;

$r$  – значение коэффициента корреляции Пирсона;

$t_{\phi}$  – фактическое значение критерия Стьюдента;

$P$  – уровень доверительной вероятности.

## Результаты и обсуждение

Сравнив между собой температуры всех участков тела самок обыкновенной гадюки черной морфы с использованием критерия Шеффе, мы обнаружили ряд статистически значимых различий (табл. 1)

Таблица 1

Статистическая значимость различий температуры участков тела самок обыкновенной гадюки черной морфы ( $n=67$ )

Участки измерения температур	$M \pm m$ CV	P							
		Пищевод	Клоака	Пилеус	Горло	Спина	Брюхо	Верх хвоста	Низ хвоста
Пищевод	26,3±0,62 19,4%	-	0,157	0,000	0,003	0,013	0,000	0,000	0,000
Клоака	23,7±0,64 22,2%	0,157	-	0,617	0,927	0,995	0,720	0,263	0,308
Пилеус	21,8±0,52 17,6%	0,000	0,617	-	0,999	0,965	1,000	0,999	1,000
Горло	22,4±0,53 17,5%	0,003	0,927	0,999	-	1,000	1,000	0,959	0,972
Спина	22,9±0,59 21,1%	0,013	0,995	0,965	1,000	-	0,989	0,734	0,781
Брюхо	22,0±0,58 21,4%	0,000	0,720	1,000	1,000	0,989	-	0,992	0,996
Верх хвоста	21,1±0,58 18,3%	0,000	0,263	0,999	0,959	0,734	0,992	-	1,000
Низ хвоста	21,2±0,58 18,4%	0,000	0,308	1,000	0,972	0,781	0,996	1,000	-

Среднее арифметическое значение температуры пищевода у обыкновенной гадюки выше температур прочих точек измерения. Причём данные различия достоверны на 0,1% уровне статистической значимости, за исключением сравнения «пищевод – клоака». В то же время, между температура внешних участков тела значительно ниже, и не было выявлено ни одного достоверного различия, что, как нам кажется, свидетельствует об однородности данного комплекса температур.

Всё это может указывать на поддержание достаточно высокой внутренней температуры как базовой за счёт механизмов физиологической и поведенческой терморегуляции в относительном отрыве от внешних условий. При этом уровень изменчивости примерно сходен для всех точек, то есть говорить о большей изменчивости температур поверхности тела по сравнению с внутренними температурами как минимум некорректно.

Полученные нами результаты согласуются с данными по прыткой ящерице, опубликованными ранее (Четанов и др., 2011).

При анализе уровня корреляции между температурами различных участков тела обыкновенной гадюки и температурами окружающей среды были выявлены следующие закономерности (табл. 2).

Взаимосвязь между температурными характеристиками окружающей среды и температурой тела у обыкновенной гадюки в Камском Предуралье

Участки измерения температур	<i>r</i>	
	<i>t<sub>φ</sub></i>	<i>P</i>
	Температура субстрата	Температура воздуха
Пищевод	0,870	0,793
	11,56	8,55
	< 0,001	< 0,001
Клоака	0,801	0,750
	8,78	7,42
	< 0,001	< 0,001
Пилеус	0,663	0,531
	5,81	4,11
	< 0,001	< 0,001
Горло	0,793	0,674
	8,52	5,98
	< 0,001	< 0,001
Спина	0,882	0,801
	12,24	8,79
	< 0,001	< 0,001
Брюхо	0,901	0,800
	13,58	8,73
	< 0,001	< 0,001
Верх хвоста	0,840	0,761
	10,14	7,70
	< 0,001	< 0,001
Низ хвоста	0,831	0,755
	9,81	7,55
	< 0,001	< 0,001

Для всех точек измерения температуры отмечена достоверная положительная корреляция с внешними температурами, однако во всех случаях зависимость температуры тела в определённой точке от температуры субстрата заметно выше, чем от температуры приземного воздуха. Подобный вывод ставит под сомнение необходимость измерения последней в полевых условиях.

Обратимся к анализу корреляции температуры различных участков тела с температурой субстрата. Тут можно сделать как минимум два вывода:

1) температура всех участков, как наружных, так и внутренних, в значительной мере связана температурой окружающей среды, причем различия в уровне корреляции несущественны, то есть ни о какой даже частичной независимости внутренних температур речь не идет, гадюка демонстрирует себя как «классический» эктотерм;

2) однако, совмещая данные из табл. 1 и 2, мы получаем куда более интересный вывод – несмотря на сходный характер зависимости от температуры окружающей среды, температура внутренних участков значительно выше, то есть гадюка по сути работает как своеобразный термос, «накапливая» тепло из окружающей среды.

Хотелось бы выразить благодарность к.б.н., профессору кафедры биологии и географии Н.А. Литвинову за помощь на всех этапах работы над статьей.



### Библиографический список

1. Литвинов Н.А., Ганцук С.В. Температура тела обыкновенного ужа *Natrix Natrix* (Linnaeus, 1758) в волжском бассейне в естественной среде и эксперименте / Известия Самарского научного центра Российской академии наук – 2012 – т. 14 №1
2. Четанов Н.А., Бакиев А.Г., Березина Г.А., Югов М.В. Температура различных участков тела прыткой ящерицы в полевых условиях / Актуальные проблемы биологии, географии, химии: сб. науч. и науч.-метод работ, посв. 80-летию факультета. - Пермь, 2011. - С. 127-130.
3. Шилов И.А. Экология – М. Высшая школа, 1998. – 513 с.

## МИКРОЭВОЛЮЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ БЕЗНАДЗОРНЫХ СОБАК НЕКОТОРЫХ РЕГИОНОВ ВЬЕТНАМА НА ПРИМЕРЕ МУТАЦИИ «РИДЖ»

Гончаренко А.А.

*Пермский военный институт войск национальной гвардии, г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: Тихонова Т.В.**

Эволюция – процесс изменения генетической структуры популяций организмов, то есть частот встречаемости аллелей в них в результате мутаций, дрейфа генов и изоляции. Новые варианты признаков являются материалом для естественного отбора, приводящего к значительной дифференциации популяций. Эти процессы являют собой микроэволюцию, наблюдение за течением которой осуществимо историческом (экологическом) времени.

Анализ генетической структуры популяций, основанный на выделении и оценке частот встречаемости фенотипов, дискретных альтернативных вариантов определенного признака или свойства организма, обусловленного генетически, и неразделимого без потери качества [1], позволяет оценить степень их дифференциации и определить протекающие в них микроэволюционные процессы.

Оценка состояния популяций безнадзорных собак, испытывающих минимальные селективные воздействия со стороны человека, методами фенетики представляет практический интерес специалистов-кинологов, так как демонстрирует возможности пороодообразования.

Интересным примером межпопуляционных различий является различие популяций по частоте встречаемости такого фенотического признака, как ридж – гребень на спине собаки, образованный волосами, растущими в направлении, противоположном росту остальных волос (рис. 1).



Рис. 1. Ридж на спине собаки

Наличие риджа специфично для трех пород собак, в названиях которых он отражен: родезийский, тайский и фукуокский риджбеки.

Родезийский риджбек – южноафриканская порода, сформировавшаяся в результате метисации собак первых европейских переселенцев с аборигенными охотничьими собаками Готтентотов, имевшими характерный ридж на спине. Стандарт породы № 146 утвержден

международной ассоциацией кинологических федераций (Fédération Cynologique Internationale, FCI) в 2000 г. Тайский риджбек – аборигенная охотничья порода восточных регионов Тайланда. Стандарт породы FCI № 338 утвержден в 1993 г. Фукуокский риджбек (фукуокская собака), аборигенная собака южного Вьетнама, центром возникновения породы является остров Фукуок. Стандарт породы принят национальной ассоциацией кинологов Вьетнама (Viet Nam Kennel Association, VKA) № 001 в 2009 г.

Генетические причины возникновения риджа обусловлены аутосомно-доминантной мутацией по типу дупликации группы генов (трех генов фактора роста фибробластов FGF3, FGF4, FGF19 и гена ORO1) и идентичны у родезийских и тайских риджбеков [2]. Возможно предположить, что эта же мутация имеется и у фукуокских риджбеков. По форме и размерам риджа существует меж- и внутривидовая изменчивость.

Данная мутация в гомозиготном варианте проявления определяет возникновение дермоидного синуса – наследственной патологии, вызывающей образование синуса (кисты) кожи, формируемой внутриутробно [3]. Синус прорастает вглубь тела сквозь мышечную ткань и может соединяться с оболочками спинного мозга. При инфицировании устья синуса развивается воспаление, которое может привести к сепсису и гибели животного. У владельцев собак кисту устраняют хирургическим путем, но собака исключается из разведения.

Высокий полиморфизм в фенотипическом проявлении риджа (форма, размер, место расположения, характер наследования, частота и степень развития дермоидного синусита) позволяет говорить о неполной пенетрантности и разной степени экспрессивности аллелей, обуславливающих его проявление [4].

Фукуокский риджбек – молодая порода, селекционная работа по ее созданию на основе выделения из местной островной популяции собак наиболее типичных производителей – носителей мутации ридж, стала проводиться сравнительно недавно. Данный признак циркулирует и в поголовье безнадзорных собак острова, иногда встречается в среде безнадзорных собак материковой части страны.

Целью нашей работы стала оценка частоты встречаемости признака «ридж» среди безнадзорных собак некоторых регионов Вьетнама.

Сбор материала проводился в 2009, 2014 и 2018 гг., собак учитывали на пешем маршруте, всего 172 животных, из них г. Фантьет – 31 собака, г. НяЧанг – 14 собак, о. Фукуок – 127 собак. Наличие риджа оценивалось визуально.

В популяциях районов, расположенных на материке, ридж отмечен достаточно редко, доля животных, носителей данного признака составила 3,2% от учтенной совокупности в г. Фантьет и 7,1% в г. НяЧанг. Интерес вызывает то, что в популяции безнадзорных собак о. Фукуок количество носителей данной мутации – 50,4%.

Необходимо отметить, что проявления дермоидного синуса возможно только у носителей гомозиготной комбинации мутантных аллелей и в условиях тропического климата приводит к элиминации особей, особенно это касается безнадзорных животных.

Резкие отличия в частоте встречаемости риджа между материковыми и островной популяциями демонстрируют изолированность последней и, вероятно, повышенную степень инбридинга в ней. Высокая частота встречаемости данной мутации в островной популяции собак, возможно, вызвана таким эволюционным фактором, как дрейф генов, и поддерживается невозможностью обмена генами с населением материка.

Факт распространения риджа в поголовье безнадзорных собак о. Фукуок и изменение генетической структуры их популяции, относительно материковых популяций, служит наглядным примером микроэволюционных процессов.

#### **Библиографический список**

1. Яблоков А.В. Фенетика: Эволюция, популяция, признак. М.: Наука, 1980. 135 с.
2. Salmon Hillbertz NH, Isaksson M, Karlsson EK, Hellmen E, Rosengren Pielberg G, Savolainen P, Wade CM, Von Euler H, Gustafson U, Hedhammar A, Nilsson M, Lindblad-Toh K,

Andersson L, Andersson G: Duplication of FGF3, FGF4, FGF19 and ORAOVI causes hair ridge and predisposition to dermoid sinus in Ridgeback dogs. Nat. Genet. 2007, 39: 1318–1320.

3. Salmon Hillbertz N. H., Andersson G.: Autosomal dominant mutation causing the dorsal ridge predisposes for dermoid sinus in Rhodesian ridgeback dogs Journal of Small Animal Practice (2006) 47, 184–188.

4. Сотская М. Генетика окраса и шерстного покрова собак. М.: АСТ: Аквариум-Принт, 2010. 318 с.

## ПАРАЗИТОФАУНА БЕЛОМОРСКОЙ ПРИБРЕЖНОЙ ТРЕСКИ *GADUS MORHUA MARIS-ALBI*

Ишимникова Н.Д.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ИФМиБ, г. Казань, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Шакурова Н.В.**

Беломорская прибрежная треска *Gadus morhua marisalbi* (Derjugin, 1920) является наиболее зараженной рыбой Белого моря (Шульман, 1953) [1]. Она выступает в роли дефинитивного, промежуточного, а также кумулятивного хозяина для разных видов паразитов. Разнообразие паразитофауны трески отражает большое разнообразие ее трофических объектов, которые, в свою очередь, являются промежуточными хозяевами для многих видов паразитов. Сбор материала проводился в акватории Кандалакшского залива губы Чупа Белого моря 20.06 – 10.07.2018 года. У выловленных рыб измеряли общую длину и определяли массу тела. При сопоставлении этих данных с таблицей роста *Gadus morhua maris albi* в Кандалакшском заливе, приведенной Н.В.Европейцевой (1937), были выделены три возрастные группы: I – 2+/3+ года (100 - 200 г /23– 29,5 см); II – 4+/5+ (220 - 500 г /13,5– 39 см); III – 8+ (1000 г и >/48,5– 51,5 см). Во всех трех группах рацион питания был схож: в желудках были найдены, в основном, фрагменты ракообразных и рыб. Что согласуется с данными Н.В. Европейцевой о питании беломорской прибрежной трески с двух-трехлетнего возраста амфиподами, колюшкой и полихетами [2]. У крупных экземпляров возрастом более 8 лет рацион составляют только рыбы (бычки). Самой многочисленной возрастной группой (68%) были рыбы на пятом и шестом году жизни (II – 4+/5+).

По итогам общего паразитологического обследования экстенсивность инвазии (E) беломорской прибрежной трески составила 96%. При средней интенсивность инвазии (I) – 65,3 экз./особь, наиболее высокая интенсивность инвазии отмечена у самых старших экземпляров выборки (III группа, 8+) – 330 экз./особь, минимальная – у рыб первой группы (возраст: 2+/3+года) – 11,2 экз./особь. Вторая группа рыб (пятого и шестого годов жизни) – самая многочисленная, – характеризуется относительно невысокой инвазированностью – 50,12 экз./особь. Наиболее интенсивно пораженным органом у наиболее молодой группы рыб (2+/3+) были пилорические придатки, у рыб постарше (4+/5+) – кишечник, а у самых взрослых (8+) – все отделы ЖКТ (желудок, пилорические придатки, кишечник). Паразитофауна трески представлена 6 видами четырех типов: *Anisakis simplex*, *Contraecicum aduncum*, *Cucullanus cirratus* (тип Nematoda: Chromadorea); *Echinorhynchus gadi* (тип Acanthocephala: Palaeacanthocephala); *Bothriocephalus scorpii* (тип Plathelminthes: Cestoda), *Lernaeocera branchialis* (тип Arthropoda: Crustacea). Доминирующими видами были нематоды *A. simplex* larva ( $I_{max}=495$ ) и скребни вида *E. gadi* ( $I_{max}=109$ ). У рыб I возрастной группы (2+/3+) паразитоценоз представлен 5 видами (отсутствовали нематоды вида *C. cirratus*). У рыб II группы паразитоценоз представлен всеми 6 видами. У рыб старше 8 лет (III группа) паразитоценоз представлен 4 видами (нематодами и цестодой).

### Библиографический список

1. Европейцева Н.В. Расовый анализ беломорской трески. Л.: Изд-во Ленингр.гос.ун-та. 1937. 97 с.

## К ИЗУЧЕНИЮ ФАУНЫ БУЛАВОУСЫХ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ ТРОИЦКОГО ЗАКАЗНИКА

Ишимова Л.Р.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: доцент, к.б.н. Лямин М.Я.**

Исследования проводились в период с 6 июня по 11 июля на территории ООПТ «Троицкий государственный природный комплексный заказник». В течение всего периода исследований дневных чешуекрылых собирались с помощью энтомологического сачка. Собранный материал раскладывался в конвертики, где подписаны дата, время, место сбора, температура воздуха в момент отлова, особенности погоды и название растения, на котором были отловлены чешуекрылые. Определение чешуекрылых проводилось с помощью определителя Ю. П. Коршунова [3], справочника-определителя по чешуекрылым Южного Урала [1]. Для анализа типов ареалов и распространения видов использовался справочник Ю. П. Коршунова и П. Ю. Горбунова [2] и справочник «Чешуекрылые Ильменского заповедника» [4].

В результате проведенной работы было выявлено 59 видов дневных чешуекрылых из следующих семейств: Nymphalidae, Lycaenidae, Satyridae, Hesperidae, Pieridae, Papilionidae (Таблица).

Таблица

Видовой состав и структура населения дневных чешуекрылых Троицкого заказника

Семейство/ вид	Экз.	%, от общего числа
Nymphalidae	530	42,9
<i>Aglais urticae</i> Linnaeus, 1756	4	0,3
<i>Apatura iris</i> Linnaeus, 1758	3	0,2
<i>Argynnis paphia</i> Linnaeus, 1758	1	0,1
<i>Boloria dia</i> Linnaeus, 1767	16	1,3
<i>Boloria euphrosyne</i> Linnaeus, 1758	1	0,1
<i>Brenthis hecate</i> Denis et Schiffermüller, 1775	81	6,6
<i>Brenthis ino</i> Rottemburg, 1775	110	8,9
<i>Euphydryas maturna</i> Linnaeus, 1758	20	1,6
<i>Fabriciana aglaja</i> Linnaeus, 1758	11	0,9
<i>Fabriciane adippe</i> Denis et Schiffermüller, 1775	23	1,9
<i>Inachis io</i> Linnaeus, 1758	1	0,1
<i>Melitaea athalia</i> Rottemburg, 1775	51	4,1
<i>Melitaea aurelia</i> Nickerl, 1850	67	5,4
<i>Melitaea britomartis</i> Assman, 1848	61	4,9
<i>Melitaea cinxia</i> Linnaeus, 1758	8	0,6
<i>Melitaea diamina</i> Lang, 1789	2	0,2
<i>Melitaea didyma</i> Esper, 1778	2	0,2
<i>Melitaea phoebe</i> Denis et Schiffermüller, 1775	23	1,9
<i>Melitaea trivialis</i> Denis et Schiffermüller, 1775	1	0,1
<i>Netris rivularis</i> Scopodi, 1763	28	2,3
<i>Nymphalis xanthomelas</i> Esper, 1781	1	0,1
<i>Nymphalis antiopa</i> Linnaeus, 1758	1	0,1
<i>Polygonia c-album</i> Linnaeus, 1758	11	0,9

## Продолжение Таблицы

Семейство/ вид	Экз.	%, от общего числа экземпляров
<i>Vanessa atalanta</i> Linnaeus, 1758	2	0,2
<i>Vanessa cardui</i> Linnaeus, 1758	1	0,1
Pieridae	64	5,1
<i>Antocharis cardamines</i> Linnaeus, 1758	2	0,2
<i>Colias hyale</i> Linnaeus, 1758	4	0,3
<i>Gonepteryx rhamni</i> Linnaeus, 1758	10	0,8
<i>Leptidia sinapis</i> Linnaeus, 1758	18	1,5
<i>Pieris napi</i> Linnaeus, 1758	11	0,9
<i>Pieris rapae</i> Linnaeus, 1758	17	1,4
<i>Pontia daplidice</i> Linnaeus, 1758	2	0,2
Satyridae	206	16,6
<i>Aphantopus hyperantus</i> Linnaeus, 1758	19	1,5
<i>Coenonympha glycerion</i> Borkhausen, 1788	77	6,2
<i>Coenonympha pamphylus</i> Linnaeus, 1758	59	4,7
<i>Melanargia russiae</i> Esper, 1786	18	1,5
<i>Oeneis tarpeia</i> Pallas, 1771	33	2,6
Lycaenidae	322	26,1
<i>Celastrina argiolus</i> Linnaeus, 1758	1	0,1
<i>Cupido argiades</i> Pallas, 1771	6	0,5
<i>Cupido minimus</i> Fuessly, 1775	7	0,1
<i>Cupido osiris</i> Meigen, 1830	7	0,6
<i>Glaucopsyche alexis</i> Poda, 1761	8	0,6
<i>Lycaena tityrus</i> Poda, 1761	3	0,2
<i>Lycaena alciphron</i> Rottemburg, 1775	2	0,2
<i>Plebejus argus</i> Linnaeus, 1758	165	13,4
<i>Plebejus idas</i> Linnaeus, 1761	24	1,9
<i>Polyommatus amandus</i> Schneider, 1792	45	3,6
<i>Polyommatus icarus</i> Rottemburg, 1775	14	1,1
<i>Polyommatus semiargus</i> Rottemburg, 1775	40	3,2
Papilionidae	16	1,3
<i>Papilio machaon</i> Linnaeus, 1758	4	0,3
<i>Iphiclides podalirius</i> Linnaeus, 1758	12	1,0
Hesperiidae	97	7,6
<i>Carterocephalus palaemon</i> Pallas, 1771	12	1,0
<i>Heteropterus morpheus</i> Pallas, 1771	18	1,5
<i>Ochlodes sylvanus</i> Esper, 1778	59	4,8
<i>Pyrgys carthami</i> Hübner, 1819	1	0,1
<i>Pyrgys malvae</i> Linnaeus, 1758	2	0,2
<i>Spialia orbifer</i> Hübner, 1823	2	0,2
<i>Syrichtus cribrellum</i> Eversmann, 1841	1	0,1
<i>Thymelicus lineola</i> Ochsenheimer, 1808	2	0,2

Как видно из таблицы, доминантами среди нимфалид были *Brenthis ino*, субдоминантами - *Melitaea aurelia*, *M. athalia* и *M. brithomartis*. Среди белянок (Pieridae) доминировали *Leptidea sinapis* и *Pieris rapae*. Из бархатниц доминировали представители двух видов сенниц – *Coenonympha glycerion* и *C. pamphylus*. Среди многочисленного семейства голубянок доминантом был вид *Plebejus argus*. Среди не многочисленного семейства парусники (Papilionidae) – доминировал парусник Подалирий (*Iphiclides podalirius*), а из толстоголовок, подавляющее число особей приходилось на *Ochlodes sylvanus*.

На рисунке 1 представлена качественная и количественная оценка структуры населения булавоусых чешуекрылых Троицкого заказника. Как видно из диаграммы, наиболее богато представлено семейство Nymphalidae (42,4% от общего числа видов). Данное семейство представлено 13 родами и 25 видами. Вторым по числу видов является семейство Lycaenidae (22,3%). Это семейство более разнообразно, из него нами отмечено 12 видов из 6 родов. Чуть меньше разнообразно представлено семейство толстоголовок (Hesperiidae), на долю которого приходится 13,6 % от общего число видов. Нами было отмечено 8 видов этого семейства из 7 родов. Семейство Pieridae (11,9 %) представлено 7 видами из 6 родов. Далее идут семейство Satyridae (8,5 %) - 5 видов из 4 родов и семейство Papilionidae (3,4 %), из которого нами отмечено только 2 вида.

На рисунке 2 представлена зоогеографическая характеристика фауны дневных чешуекрылых района исследований. Как видно из диаграммы, ареалы видов булавоусых чешуекрылых заказника можно отнести к 8 типам: палеарктический, голарктический, космополитический, центральноевразийский, амфиевразийский, евразийский, трансевразийский, западноевразийский. Доминантами являются трансевразийские виды (37 видов), что составило 62,7 %, от общего числа видов.

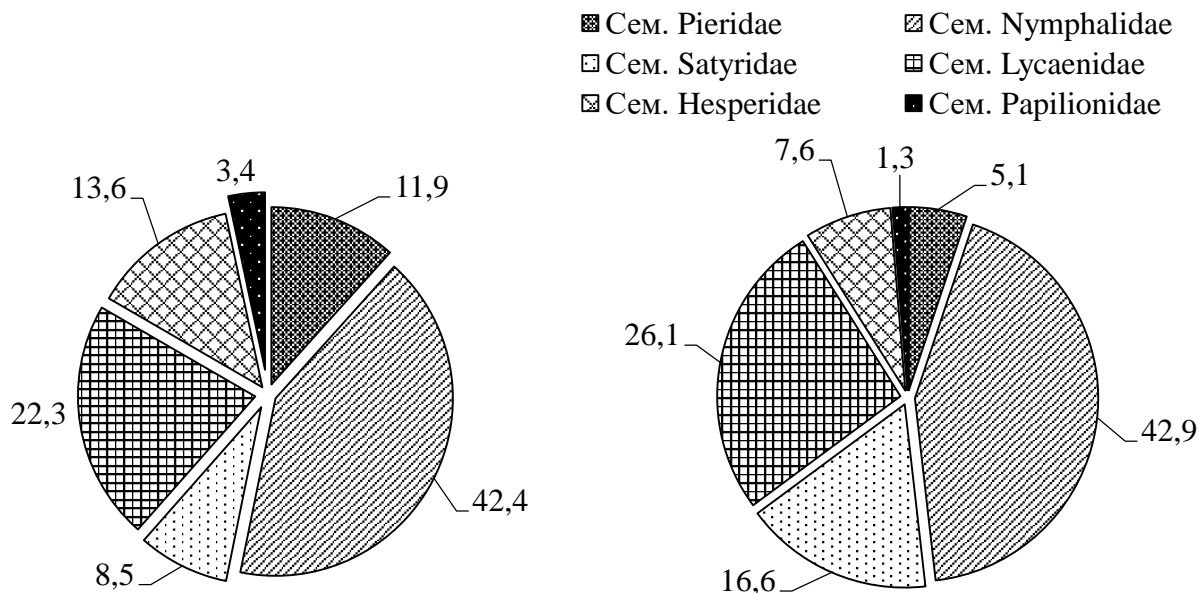


Рис. 1. Качественная и количественная структура населения булавоусых чешуекрылых Троицкого заказника (слева - % количества видов в семействе от общего числа видов, справа - % количества экземпляров в семействе от общего числа экземпляров).

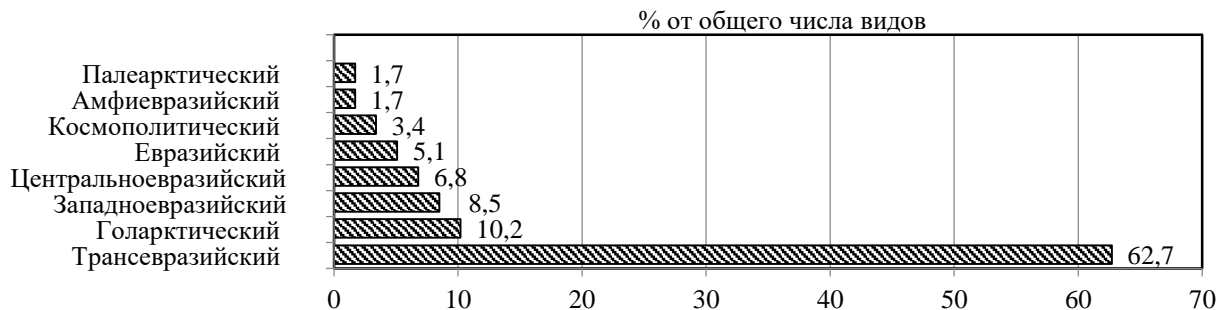


Рис. 2. Зоогеографическая характеристика фауны дневных чешуекрылых района исследований.

### Библиографический список

Горбунов П.Ю., Ольшванг В.Н. Бабочки Южного Урала: Справочник-определитель. – Екатеринбург. из-во «Сократ», 2008. С. 416.

Коршунов Ю.П., Горбунов П.Ю., Дневные бабочки азиатской части России: Справочник. – Екатеринбург: Изд-во Урал ун-та, 1995. С. 202.

Коршунов Ю.П., Булавоусые чешуекрылые Урала, Сибири и Дальнего Востока: определитель и аннотация. – Новосибирск: Вител, 2000. С.221

Ольшванг В.Н., Нуппонен К.Т., Лагунов А.В., Горбунов П.Ю. Чешуекрылые Ильменского заповедника. – Екатеринбург: ИГЗ УрО РАН, 2004.

## **МОРФОЛОГИЯ ПОСТАННУЛЯРНОГО ОТДЕЛА *NEREILINUM MURMANICUM* (IVANOV, 1961) (POGONOPHORA: FRENULATA)**

Канафина М.М.

*ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ИФМиБ, г. Казань, Россия*

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Голиков А.В.**

Первые представители погонофор были найдены еще в начале прошлого века, и хотя с тех пор их изучению было посвящено немало исследований многие аспекты их морфологии, эмбриологии и экологии до сих пор остаются слабо изучеными, особенно для представителей арктических френулят [1, 2]. Одним из самых загадочных вопросов является полное отсутствие у взрослых форм органов пищеварительной системы симбиоз с метан- или сульфокисляющими грамотрицательными бактериями, населяющими специализированные клетки трофосомы – трофоциты [3].

В ходе работы была изучена экология, внешняя морфология в количестве 181 особи френулятной погонофоры *N. murmanicum* из Баренцева моря, а также было изучено строение постаннулярного отдела тела и трофосомы на тонком и ультратонком уровнях 14 особей. Материал был собран в рамках программы бентосной съемки Баренцева моря в сентябре 2006 г. научно-исследовательскими судами Полярного научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии им. Н. М. Книповича (ПИНРО) (г. Мурманск). Погонофоры были найдены в центральной части Баренцева моря на различных глубинах: минимальная составляла 75,2 м, максимальная – 341 м. Характер грунта в местах нахождения червей также был различен (от глинистого ила до песка и каменистого грунта).

Длина тела *N. murmanicum* максимально может достигать 10,5 см, ширина не превышает 0,3 мм. Тело заключено в цилиндрическую желто-коричневую несегментированную трубку. На поверхности трубки заметны коричневые кольца, чередующиеся с бесцветными и морщинистыми участками. Подобно всем френулятам тело *N. murmanicum* состоит из 4 сегментов: прото-, мезо-, мета- и опистосомы. Протосома узкая, цилиндрической формы, несет пару тонких и очень длинных щупалец без пиннул и коническую головную лопасть, не обособленную от протосомы. Протосома отделена от второго сегмента, мезосомы, кольцевой бороздой, (уздечкой). Она образована утолщенными участками кутикулы – килиями, соединенными на брюшной стороне. Ниже располагаются железистые полоски, вырабатывающие секрет для постройки трубки.

Самым длинным сегментом тела является метасома. Она состоит из пре- и постаннулярного отделов. Преаннулярный отдел метасомы подразделен на метамерную и неметамерную область. В метамерном отделе можно заметить вентральный желобок, ограниченный с двух сторон дорсальными валиками, на каждом из которых располагается ряд папил. В начале могут встречаться участки скопления железистых папил. В неметамерной части папилы разбросаны беспорядочно. Преаннулярный и постаннулярный отделы метасомы разграничены парой вентральных поясков и предшествующей им зоны сгущения папил. Пояски имеют форму полуколец, покрыты щетинками. В постаннулярном отделе метасома резко сужается, сквозь эпидермис просвечивает темно серая срединная нить

– трофосома. На вентральной стороне можно обнаружить конические темно коричневые папиллы, на дорсальной стороне находятся щитки.

Опистосома была найдена только у двух взрослых особей 2006 г., а так же у всех ювенильных особей. Такая малая вероятность нахождения данного сегмента связана с его высокой травмируемостью при сборе погонофор: он часто отрывается от метасомы и остается в части трубки, хорошо укоренившейся в грунте. Опистосома представляет собой самый короткий отдел тела, имеющий овальную форму. Она сегментирована, однако, подсчитать точное количество составляющих ее сегментов не представляется возможным.

В ходе работы были получены поперечные, продольные и сагиттальные срезы постанулярного отдела *N. murmanicum*. Снаружи тело нереилинума покрыто плотным слоем кутикулы, прилегающей к однослойному кубическому эпителию. Эпителиоциты плотно прилегают друг к другу, обладают неровными краями. Внутри можно заметить множество небольших темных гранул и крупные вытянутые темноокрашенные ядра. Мускулатура данного отдела развита сравнительно слабо и состоит из продольного и кольцевого слоев. Ядра продольной мускулатуры могут располагаться в полости тела, чем напоминает мускулатуру нематоидного типа. Метацель метасомы состоит из пары целомических мешков, на мезентериях подвешены брюшной сосуд и более крупный спинной. Также в целоме были обнаружены грушевидные тубипорные железы, производящие секрет для постройки трубки.

Центральную часть постанулярного отдела занимает трофосома, с внешней стороны покрытая перитонеальным эпителием. Ширина трофосомы составляет 0,025 – 0,175 (0,079±0,003) мм, минимальное значения объема варьирует от 0,00079 мм<sup>3</sup> до 0,11958 мм<sup>3</sup>. Клетки перитонеального эпителия имеют неправильную форму, обладают крупными круглыми ядрами и содержат множество многослойных гранул, благодаря которым трофосома приобретает темный цвет. В центре трофосомы располагается полость, с внутренней стороны выстеленная специализированной рыхлой тканью. В ее клетках располагаются скопления сероводородоксилирующих симбиотических бактерий [3]. Бактерии имеют продолговатую палочковидную форму, их длина варьирует 0,95 – 2,10 (1,50±0,16) мкм, а диаметр в сечении – 0,27 – 0,43 (0,36 ±0,03) мкм. Они окружены гранулами хозяйской клетки, которые визуальнo можно на два типа. Гранулы 1 типа имеют плотную мембрану, многослойны, напоминают микровилли секретизирующих клеток. Гранулы 2 типа обладают более толстой мембраной, однослойны: содержимое равномерно распределено в полости гранулы. Диаметр гранул 1 и 2 типа составляет 0,93 – 2,47 (2,05 ±0,23) мкм и 1,144 – 2,10 (1,77± 0,09) мкм соответственно. Состав и функции данных гранул до сих пор неизвестен [4]. Бактериоциты обладают небольшими ядрами овальной формы с множеством глыбок гетерохроматина. Цитоплазма, окружающая ядро, имеет плотную, зернистую структуру.

#### Библиографический список

1. Caullery M. Sur les Siboglinidae, type nouveau d'Invertébrés recueilli par l'expédition du Siboga // C.R. Acad. Sci. Paris, 1914. - V. 158. - P. 2014-2017 et Bill. Soc. Zool. France. - V. 39. - P. 350-353.
2. Southward E.C., Schulze A., Gardiner S.L. Pogonophora (Annelida): form and function // Marine Biological Association of the UK, Hydrobiologia, 2005. - V. 535. - P. 227-251.
3. Southward E.C. Bacterial symbionts in Pogonophora // J. Mar. Biol. Assoc. UK, 1982. - V. 62. - P. 889-906.
4. Flügel H.J. A new species of Siboglinum (Pogonophora) from the North Atlantic and notes on *Nereilinum murmanicum* Ivanov // Sarsia, 1990. - V.3. - №75. - P. 233-241.



# МОРФОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРАСНОПЕРКИ *SCARDINIUS ERYTHROPHthalmus* ВОТКИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА

Ложкина Е.Н.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Бакланов М.А.**

Обыкновенная красноперка *Scardinius erythrophthalmus* (Linnaeus, 1758) из семейства карповые является пресноводной рыбой, для которой бассейн Камы является северо-восточной границей ареала. Популяции красноперки ведут оседлый образ жизни, по типу питания являются фитофагами, по месту нереста – фитофилами. В бассейне Средней Камы вид является слабо изученным, что делает его изучение актуальным.

Цель работы – изучение некоторых морфологических и биологических показателей красноперки Воткинского водохранилища.

Сбор материала осуществлялся с 26 июня по 4 июля 2018 г. в Ольховском заливе Воткинского водохранилища около д. Подземляная Частинского района. Лов рыбы производился с помощью ставных сетей с ячеей от 20 до 40 мм. Всего было поймано и обработано 92 экз. красноперки. Большая часть рыб была зафиксирована в формалине и только самые крупные особи измерялись в свежем виде на месте лова. У каждой особи определялись: длина тела до конца чешуйного покрова, общая масса тела и масса тела без внутренностей, пол и стадия зрелости гонад. У фиксированных рыб в лабораторных условиях также устанавливалась масса гонад для вычисления гонадо-соматического индекса (ГСИ). Возраст рыб определялся по чешуе. У 50 экз. красноперки подсчитаны счетные признаки для морфологической характеристики.

В таблице 1 представлены основные счетные признаки исследованной выборки красноперки в сравнении с литературными данными. Число неветвистых лучей в спинном плавнике (D) у всех особей из Ольховского залива Воткинского водохранилища было равным 3, среднее число ветвистых лучей в D –  $8,37 \pm 0,07$ . В анальном плавнике (A) неветвистых лучей – 3, ветвистых –  $10,78 \pm 0,06$ ; в грудном плавнике (P), соответственно, 1 и  $4,12 \pm 0,11$ ; в брюшном плавнике (V) – 2 и  $8,80 \pm 0,06$ . Число позвонков в туловищном отделе варьировало от 21 до 23, в среднем –  $21,93 \pm 0,10$ , в хвостовом отделе – от 15 до 18, в среднем –  $16,55 \pm 0,15$ , среднее значение общего числа позвонков –  $38,48 \pm 0,16$ . Среднее число чешуй в боковой линии –  $40,92 \pm 0,24$ , жаберных тычинок –  $11,10 \pm 0,17$ . Формула глоточных зубов у всех особей была одинакова – 3.5 : 5.3. Существенных отличий счетных признаков описываемой выборки от сведений, приведенных в литературе, не выявлено, что подтверждает мнение о стабильности морфотипа вида.

В выборке красноперки Ольховского залива присутствовали особи возрастом от 3+ до 8+ лет, среди которых преобладали особи возрастом 3+ лет (табл. 2). Предыдущие наблюдения в этом заливе в 2016 г. [5] при аналогичном возрастном диапазоне рыб, характеризовались доминированием пятилеток (4+), которые составляли более 60% уловов. Это расхождение может быть связано с разной селективностью использованных сетей, либо являться следствием неблагоприятных условий для нереста красноперки в 2014 г., что привело к малочисленности данного поколения.

В половой структуре выборки отмечено преобладание самок, как в целом, так и во всех возрастных группах (см. табл. 2). Аналогичная ситуация наблюдалась у красноперки Ольховского залива и в 2016 г.

Таблица 1

## Счетные признаки красноперки из некоторых водоемов

Водоем, автор	Признаки						n
	<i>l</i> , мм	<i>ll</i>	D	A	ж.т.	Vt	
Фархадское в-ще [1]	$\frac{92-221}{155}$	$\frac{37-43}{39,61}$	$\frac{8-10}{9,03}$	$\frac{9-13}{11,22}$	$\frac{9-13}{10,51}$	–	97
р. Днепр [2]	–	$\frac{38-43}{40,48}$	$\frac{8-10}{8,63}$	$\frac{9-12}{11,17}$	$\frac{9-12}{11,03}$	$\frac{37-41}{39,26}$	100
Воткинское в-ще [3]	–	$\frac{39-43}{41,36}$	$\frac{7-10}{8,13}$	$\frac{10-12}{10,68}$	$\frac{8-12}{10,44}$	$\frac{38-42}{39,46}$	100
Камское в-ще, 2006–2007 [4]	$\frac{81-180}{107,2}$	$\frac{40-43}{42,12}$	$\frac{8-10}{9,14}$	$\frac{9-12}{9,98}$	$\frac{9-12}{11,23}$	$\frac{38-41}{39,16}$	182
Воткинское в-ще, 2018, данные автора	$\frac{81-173}{122}$	$\frac{37-44}{40,92}$	$\frac{8-9}{8,37}$	$\frac{10-11}{10,78}$	$\frac{10-13}{11,10}$	$\frac{37-41}{38,48}$	50

Примечание: *l* – длина тела, *ll* – число чешуй в боковой линии, D – число ветвистых лучей в спинном плавнике, A – число ветвистых лучей в анальном плавнике, ж.т. – число жаберных тычинок, Vt – общее число позвонков; над чертой – колебания признака, под чертой – среднее значение.

Таблица 2

## Возрастная и половая структуры красноперки Ольховского залива Воткинского водохранилища, июнь-июль 2018 г.

Пол	Возрастные группы												Всего	
	3+		4+		5+		6+		7+		8+			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
♂	10	29,4	5	41,7	7	33,3	4	33,3	–	–	1	8,3	27	29,3
♀	24	70,6	7	58,3	14	66,7	8	66,7	1	100	11	91,7	65	70,7
♂♀	34	37,0	12	13,0	21	22,9	12	13,0	1	1,1	12	13,0	92	100

Длина ольховских красноперок в 2018 г. варьировала от 81,2 до 281 мм, масса от 13,2 до 325 г. По линейно-весовым параметрам красноперки из Ольховского залива Воткинского водохранилища превышают рыб аналогичного возраста из Чусовского и Сылвенского заливов Камского водохранилища.

Для оценки развития гонад у рыб использовали гонадо-соматический индекс (ГСИ) – отношение массы гонад к массе тела без внутренностей. У всех выловленных самок данный показатель варьировал от 0,47 до 15,36%, у самцов – от 0,50 до 3,83%. Большинство самок имело ГСИ более 2%, что, очевидно, указывает на развитие еще одной порции икры выметываемой в июле [5].

## Библиографический список

1. Максун В.А. Материалы к морфолого-биологической характеристике рыб Фархадского водохранилища // Тр. АН ТаджССР. Душанбе, 1956. № 15. С. 63–68.
2. Жуков П.И. Рыбы Белоруссии. Минск: Наука и техника, 1965. С. 201–208.
3. Устюгова Т.В. Красноперка Воткинского водохранилища // Основы рацион. использования рыбных ресурсов камских водохранилищ: межвуз. сб. науч. тр. Пермь, 1978. С. 52–61.
4. Устюгова Т.В., Красулина О.С., Зиновьев Е.А. Красноперка Камского водохранилища // Биология и экология рыб Прикамья: межвуз. сб. науч. тр. Пермь, 2008. Вып. 2. С.129–137
5. Ложкина Е.Н. Биологическая характеристика красноперки *Scardinius erythrophthalmus* Ольховского залива Воткинского водохранилища // Фундаментальные и

## АНТОФИЛЬНЫЕ НАСЕКОМЫЕ ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЫ ЮЖНОГО ЗАУРАЛЬЯ

Меркушева Е.С.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Крашенинников А.Б.**

Антофильные насекомые это одна из наиболее процветающих экологических групп из всего класса. При этом они являются опылителями как дикорастущих растений, так и большинства сельскохозяйственных культур (Westerkamp C., Gottsberger G., 2000, Losey J.E., Vaughan M., 2006). От их деятельности зависит урожай семян многих культурных растений, а также сорно-рудеральная флора. Присутствие цветущих сорняков носит систематический характер, зачастую требуются специальные меры по ограничению их численности. С другой стороны, они представляют собой важный ресурс дополнительного питания полезных насекомых. Многие из антофильных насекомых являются не только опылителями, но и вредителями сельскохозяйственных и декоративных культур, что представляет собой особую актуальность их изучения.

Работа проводилась на территории ООПТ «Троицкий государственный природный комплексный заказник» (Троицкий р-он Челябинской обл.). Исследования осуществлялись в период с 9 июня по 11 июля 2018 года. Целью данной работы было изучение биоразнообразия и активности антофильных насекомых исследуемого района. Сбор антофильных насекомых проводился в дневное время с цветущих растений. Материал собирался энтомологическим сачком, руками и чашками Мерике. Учеты проводились в светлое время суток, с 7 часов до 21 часа.

В результате проведенных сборов отмечены представители 123 видов и форм из 30 семейств. Всего поймано 773 экземпляра антофильных насекомых. Жуки представлены 50 видами из 13 семейств, самым богатым в видовом отношении является семейство усачи (15 видов). Наиболее обильным видом в сборах оказался восковик перевязанный (*Trichius fasciatus* Linnaeus, 1758). Перепончатокрылые представлены 45 видами из 8 семейств, самым богатым семейством оказались пчелиные (29 видов), из них самыми массовыми видами были: *Bombus humilis* Illiger, 1806, *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 и *Bombus muscorum* Fabricius, 1775. Самым массовым перепончатокрылым отмечен *Polistes nimpha* (Christ, 1791). Двукрылые определены до видового уровня лишь частично, всего отмечено 20 таксонов из 6 семейств. Наиболее разнообразны сирфиды (11 видов). Самыми массовыми видами среди двукрылых зарегистрированы *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) (сем. Calliphoridae) и *Chrysotoxum festivum* (Linnaeus, 1758) (сем. Syrphidae). Клопы представлены 8 видами из 4 семейств, самым обильным является семейство Pentatomidae (5 видов). Самый массовый вид клопов – *Graphosoma lineatum* Linnaeus, 1758.

### Библиографический список

1. Westerkamp, C. & Gottsberger, G. Diversity pays in crop pollination. Crop Science. 2000 Vol.40. P. 1209–1222
2. Losey JE, Vaughan M. The economic value of ecological services provided by insects. Bioscience 2006. Vol. 56. P. 311–323.

# ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ПРОИСХОЖДЕНИЕ МАЛАКОФАУН РЕЧНЫХ БАССЕЙНОВ ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ РАВНИНЫ И УРАЛА

Овчанкова Н.Б.

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: к.б.н., профессор Паньков Н.Н.**

Восточно-Европейская равнина простирается от побережья Балтийского моря до Уральских гор, от берегов Белого и Баренцева морей до берегов Чёрного, Азовского и Каспийского. Урал представляет собой асимметричный горный хребет, протяжённость которого с севера на юг достигает 2200 км при средней ширине около 170 км.

Для выяснения изменений таксономической структуры малакофаун и возможных путей их формирования нами были составлены видовые списки на основе просмотра малакологических коллекций (коллекция автора и коллекция Зоологического музея ИЭРиЖ УрО РАН по бассейну Верхней и Средней Камы), а также путём критического анализа литературных источников [2, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 13, 14]. Сборы автора проведены в водоёмах Камского бассейна в период с 2012 по 2018 гг.

Сравнение малакофаун крупных речных бассейнов Восточно-Европейской равнины и Урала показало, что прослеживается тенденция уменьшения таксономического разнообразия в направлении от низких широт к более высоким как на уровне семейств, так и на уровне родов и видов (табл.).

Таблица

Таксономическое разнообразие пресноводных моллюсков отдельных речных бассейнов\*

Таксоны	Речной бассейн							
	Кама	Вятка	Нижняя Волга	Урал	Северная Двина	Мезень	Печора	Коротаиха
Cardiidae	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Dreissenidae	1/2	1/1	1/2	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0
Sphaeriidae	4/30	5/18	4/31	4/8	5/17	3/19	4/19	4/9
Margaritiferidae	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0
Unionidae	3/8	3/8	3/8	2/4	3/7	0/0	1/1	0/0
Acroloxidae	1/2	1/2	1/1	1/1	0/0	1/2	1/1	0/0
Bithyniidae	2/4	2/4	1/3	1/2	1/2	1/1	1/1	0/0
Lithoglyphidae	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Lymnaeidae	8/26	5/14	6/16	7/22	5/17	5/15	7/19	5/15
Neritidae	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Physidae	2/4	2/4	2/2	4/6	2/3	1/1	2/3	0/0
Planorbidae	10/27	11/22	10/23	10/23	7/13	7/10	8/16	2/5
Valvatidae	1/14	1/10	2/5	1/4	1/6	1/6	1/3	1/2
Viviparidae	1/3	1/2	1/3	1/2	1/2	0/0	0/0	0/0
Всего семейств:	10	10	13	10	9	7	8	4
Всего родов:	33	32	34	32	26	19	25	12
Всего видов:	120	85	97	73	68	54	63	31

\*Примечание: в числителе – количество родов, в знаменателе – видов.

Моллюски семейств *Cardiidae*, *Lithoglyphidae* и *Neritidae* встречаются лишь в бассейне Нижней Волги, тогда как европейские жемчужницы (сем. *Margaritiferidae*) отмечены только в бассейне Северной Двины.

Солоноватоводный вид *Adacna colorata* (сем. *Cardiidae*) распространён в Северном Каспии [1] и может проникать в Нижнюю Волгу. Вид *Lithoglyphus naticoides* (сем. *Lithoglyphidae*) распространён в бассейне Балтийского моря и в верхней части Волжского бассейна [3]. Его обнаружение в Нижней Волге, вероятно, связано с пассивным расселением моллюска вниз по течению. Представитель сем. *Neritidae* – *Theodoxus fluviatilis* приурочен к пресным и солоноватым водам Западной и Центральной Европы [3] и в бассейн Нижней Волги проник, по-видимому, совсем недавно. Европейская жемчужница *Margaritifera margaritifera*, указанная из Северной Двины, распространена на севере Европейской России [3]. Элементы понто-каспийской фауны – представители семейства *Dreissenidae* [3] не отмечены для рек бассейна Северного Ледовитого океана.

Общее видовое богатство моллюсков оказалось резко неравномерным (табл.). Реки северной части региона почти в два раза беднее по видовому составу, что не противоречит классическим представлениям об уменьшении объёма фаун в направлении от низких широт к более высоким [10]. Низкое таксономическое разнообразие фаун моллюсков Северных регионов может быть объяснено возрастом водоёмов, в которых они были обнаружены. Северная часть региона подвергалась плейстоценовым оледенениям, уничтожившим водные объекты с местной фауной. Заселение моллюсками произошло сравнительно недавно, в течение голоцена (10-12 тысяч лет).

Анализ сходства малакофаун речных бассейнов, проведённый на основе значений индекса Охай (I), демонстрирует выделение двух обособленных кластеров (рис.): с речными бассейнами Северного Ледовитого океана и Каспийского моря. По степени фаунистического сходства наиболее близкими оказались речные бассейны Камы и Вятки (I=0,73), Печоры и Северной Двины (I=0,75). Обе пары речных бассейнов географически смежные. Верховья Камы и Вятки располагаются в непосредственной близости друг от друга, что, вероятно, связано с некогда существовавшим в эпоху плейстоцена ледником, «развернувшим» русла рек в южном направлении. Близость верховьев обеспечивает возможность моллюскам мигрировать во время половодий. Высокая степень сходства фаун Северной Двины и Печоры, вероятно, также связана с близким расположением верховьев обеих рек.

В микулинскую межледниковую эпоху и в течение валдайского оледенения существовало «Троицко-Печорское» озеро, имевшее связь с Вычегдой и Камой [9]. Это древнее озеро могло сыграть роль рефугиума и способствовать расселению малакофауны на север и северо-запад. Высказанные положения, вероятно, могут объяснять близость между фаунами бассейна Северной Двины и Камы (I=0,66), а также Северной Двины и Вятки (I=0,70).

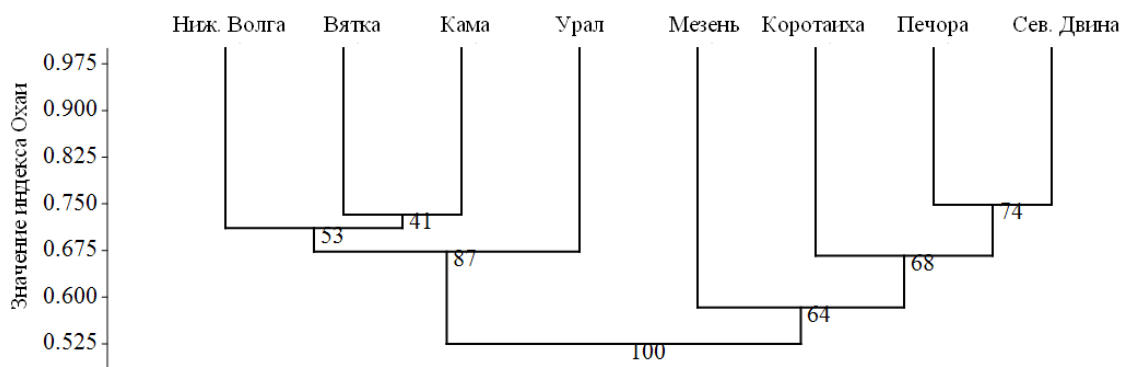


Рис. Дендрограмма фаунистического сходства фаун моллюсков речных бассейнов.

Обращает на себя внимание высокая степень сходства фаун речных бассейнов Каспийского моря. Палеогеографические процессы, имеющие место в Каспии, связаны с ледниковыми событиями на Русской равнине [15]. Во время трансгрессий моря

перемешивались воды дельт и нижних течений рек Волги и Урала, что способствовало смешению и малакофаунистических элементов.

Таким образом, результаты анализа видового насыщения фаун не противоречат концепции широтного градиента таксономического разнообразия: происходит сокращение числа таксонов как на уровне семейств и родов, так и на уровне видов в направлении от низких широт к более высоким. Современное состояние малакофаун является результатом фауногенетических процессов, протекающих на фоне геологических событий.

Автор признателен к.б.н. П.В. Кияшко (ЗИН РАН) и д.б.н. М.В. Винарскому (СПбГУ) за помощь в определении материала, М.Е. Гребенникову за возможность работать в Зоологическом музее ИЭРиЖ УрО РАН. Благодарю за организацию исследований на водоёмах Прикамья сотрудников Камско-Уральского филиала ФГБУ «Главрыбвод». Выражаю благодарность коллегам ПГНИУ за предоставление личных сборов малакологического материала.

### Библиографический список

1. Богуцкая Н.Г., Кияшко П.В., Насека А.М., Орлова М.И. Рыбы и моллюски // Определитель рыб и беспозвоночных Каспийского моря. Т.1. / под ред. Н.В. Аладина. М–СПб: Товарищество научных изданий КМК, 2013. 543 с.
2. Винарский М.В. Лёгочные моллюски (Mollusca: Gastropoda: Lymnaeiformes) водоёмов Урала и Западной Сибири. Дис. ... докт. биол. наук. Омск, 2014. 547 с.
3. Кияшко П.В., Солдатенко Е.В., Винарский М.В. Брюхоногие моллюски // Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России. Т. 2. Зообентос / под ред. В.Р. Алексеева и С.Я. Цалолихина. М–СПб: Товарищество научных изданий КМК, 2016. С. 335–438.
4. Красногорова А.Н. Двустворчатые моллюски семейства Sphaeriidae Южного, Среднего Урала и юга Западной Сибири. Дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2011. 173 с.
5. Лешко Ю.В. Моллюски. Фауна Европейского Северо-Востока России. Т. 5. Ч. 1. СПб: Наука, 1998. 168 с.
6. Лешко Ю.В., Шадрин Н.Ю., Паньков Н.Н. Фауна и зоогеографическая характеристика пресноводных моллюсков Западного Урала и Тимана // Тр. Коми научного центра УрО РАН. № 166. Сыктывкар, 2001. С.152-164.
7. Михайлов Р.А. Эколого-фаунистический анализ пресноводных моллюсков Средней и Нижней Волги. Дис. ... канд. биол. наук. Тольятти, 2015. 188 с.
8. Никитина А.П., Кононова В.М., Мартынова Е.Г. Моллюски р. Урал и некоторых его притоков // Гидробиол. журн. 1974. Т. 10, вып. 2. С. 76–79.
9. Соколов А.А. Гидрография СССР (воды суши). Л., 1952. 471 с.
10. Старобогатов Я.И. 1970. Фауна моллюсков и зоогеографическое районирование водоёмов земного шара. Л.: Наука. 372 с.
11. Холмогорова Н.В., Каргапольцева И.А., Винарский М.В., Лазуткина Е.А. Материалы к фауне пресноводных брюхоногих моллюсков (Mollusca: Gastropoda) Удмуртской республики // Вестн. Удмурт. ун-та. 2012. Вып. 2. С. 47–55.
12. Хохуткин И.М., Ерохин Н.Г., Гребенников М.Е. Моллюски: Биоразнообразие, экология. Екатеринбург: УрО РАН, 2003. 237 с.
13. Шихова Т.Г. Фауна моллюсков бассейна реки Вятки и Вятско-Двинской водораздельной области. Дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург, 2004. 220 с.
14. Шихова Т.Г. Пресноводная малакофауна бассейна р. Чепца // Актуальные вопросы современной малакологии: сб. науч. тр. Всерос. науч. конф. с междунар. участием. Белгород, 2017. С. 107–113.
15. Янина Т.А. Палеогеография бассейнов Понто-Каспия в плейстоцене по результатам малакофаунистического анализа. Автореф. дис. ... докт. геогр. наук. Москва, 2009. 42 с.

# СОСТАВ ИХТИОФАУНЫ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОГО ОЗЕРА В НИЖНЕВАРТОВСКОМ РАЙОНЕ ХМАО-ЮГРЫ

Перминова В.В., Бабкина И.Б.

*Томский государственный университет, г. Томск, Россия*

**Научный руководитель: д.б.н. Воробьев Д.С.**

Загрязнение водоемов нефтью и нефтепродуктами является актуальной проблемой всех нефтедобывающих регионов, к которым относится Нижневартовский район ХМАО-Югры Тюменской области. В процессе мониторинга и очистки водных объектов особое внимание уделяется ихтиофауне, так как рыбы являются объектами-индикаторами.

В 2017–2018 гг. проведены комплексные исследования нефтяного озера, не имеющего названия. Для определения состава ихтиофауны использовались набор ставных жаберных сетей, с шагом ячеи 22 мм, длиной 25 метров. Сети были установлены в северо-западной и юго-восточной части озера на 24 часа. Отлов рыбы проводился также на удочку. Первичная обработка проводилась по следующим параметрам: видовой состав, численность и биомасса рыб. Весь собранный материал подвергнут неполному биологическому анализу, проведенному по стандартным ихтиологическим методикам [1]. В рамках биологического анализа рыб определен видовой, половой и возрастной состав уловов, изучено содержимое желудков.

Видовой состав ихтиофауны исследуемого озера по результатам отловов, представлен только одним видом – окунем (сем. Percidae). Возрастной ряд представлен особями от 2+ до 5+ лет, более старших особей отмечено не было. Средний возраст самок составил 3.0 лет, самцов – 3.9, для обоих полов – 3.2. Соотношение полов в разных возрастных группах неодинаково, преобладали самки в соотношении 3:1.

Длина тела отловленных особей составляла от 98 до 222 мм (в среднем – 142.5 мм), масса тела от 17 до 165 г (в среднем – 55.8 г). Сравнение размерных характеристик окуня из обследованного озера с литературными данными по окуню, обитающему в разных по типу и географическому расположению водоемах, показало, что он имеет средний рост. В целом размерно-весовые параметры окуня озер Нижневартовского р-на несколько ниже, чем в крупных реках, но выше, чем в озерах и затонах.

По способу питания окунь является факультативным хищником [2]. Молодь питается зоопланктоном (ракообразные: циклопы, бокоплавы), на втором году жизни, переходит на питание бентосом (личинки насекомых, особенно хирономид, поденок, стрекоз, ручейников), а затем и рыбами. В желудках окуня при длине тела от 98 до 222 мм отмечено 5 компонентов, из которых наиболее часто встречались личинки комаров и личинки стрекоз. В одном из желудков окуня из безымянного озера обнаружены твердые остатки углеводов (нефть).

Таким образом, можно заключить, что ихтиофауна исследуемого безымянного нефтяного озера очень скудна, окунь из уловов характеризуется несколько заниженными размерно-весовыми показателями и сжатым возрастным рядом.

## Библиографический список

1. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. М.: Пищевая промышленность, 1966. – 373 с.
2. Книжин И. Б. Сообщества рыб водоёмов различного типа бассейна верхнего течения реки Лена : дис. ... канд биол. наук / И. Б. Книжин. – Иркутск, 1993. – 175 с.

# АНАЛИЗ ВЫРАЩИВАНИЯ МОЛОДИ КАРПА В УСЛОВИЯХ ПОЛНОСИСТЕМНОГО РЫБОВОДНОГО ХОЗЯЙСТВА

Петрова Т.С., Радостева Е.М.

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Костицына Н.В.**

На современном этапе развития российского общества актуальной проблемой является обеспечение населения доступными и недорогими продуктами питания, отвечающими всем стандартам качества. Основным приоритет в решении проблемы дефицита пресноводной рыбы будет принадлежать прудовому рыбоводству.

В настоящее время тенденция развития прудового рыбоводства направлена на увеличение продуктивности водоемов с одновременным уменьшением себестоимости товарной рыбы с сохранением качества конечной продукции. Успешными и конкурентоспособными станут те хозяйства, которые смогут выращивать недорогую продукцию, отвечающую потребительскому оптимуму по средней массе рыбы [3].

В связи с вышеизложенным целью исследования являлись анализ и обобщение опыта выращивания товарного карпа полносистемного рыбоводного хозяйства Удмуртской республики СГУП «Рыбхоз «Пихтовка».

В рамках работы проведен анализ деятельности СГУП «Рыбхоз «Пихтовка» с 2016 по 2018 гг. Товарное рыбоводство в рыбхозе базируется в основном на выращивании карпа. Получение личинок карпа проводится заводским способом, который позволяет выводить молодь в более ранние сроки и удлинять вегетационный период ее роста. Личинки выдерживаются в инкубационном цехе в течение 3–4 дней, а затем пересаживаются в выростные пруды. Производители сразу же после взятия икры отсаживаются в летне-маточные пруды, где содержатся до осеннего облова.

В ходе исследований применяли информационно-аналитические методы. На стадии сбора исходной информации проводили выборочные статистические исследования по плановым, отчетным и нормативным документам с 2016 по 2018 гг.

СГУП «Рыбхоз «Пихтовка» находится в Воткинском районе Удмуртии, в 15 км к северо-востоку от г. Воткинска. Строительство хозяйства было завершено в 1979 г. На сегодняшний день рыбхоз является полносистемным хозяйством и располагает всеми категориями прудов, которых в общей сложности насчитывается 47. Общая площадь водных объектов хозяйства составляет более 600 га, из которых 449 га занято нагульными прудами, 107 га выростными и 87 га занимает головной пруд. Небольшую площадь имеют летнематочные пруды. Основным источником водоснабжения хозяйства является р. Большая Кивара (левобережный приток р. Сивы). Подача воды в пруды производится по открытым земляным каналам и закрытым бетонированным [2].

Технология выращивания товарного карпа в СГУП «Рыбхоз «Пихтовка» общепринята для полносистемных специализированных хозяйств: сформировано стадо производителей, осуществляется воспроизводство рыб, проводится выращивание посадочного материала, предусмотрена также зимовка молоди и производителей [1].

Как видно из таблицы 1, между плотностью посадки и массой на выходе за один сезон, существует прямая зависимость: чем больше плотность посадки, тем меньше масса на выходе. Так же можно отметить, что низкая плотность посадки позволит перейти на двухлетний оборот в полносистемном рыбоводном хозяйстве, расположенном в крайних северных точках первой рыбоводной зоны, которые являются неблагоприятными для карповодства.



Результаты исследования показали, что технология выращивания товарной рыбы в СГУП «Рыбхоз «Пихтовка» в настоящее время достаточно эффективна. Удорожание горюче-смазочных материалов, электроэнергии, услуг по водоснабжению и стоимости кормов для рыбы при трехлетнем обороте ведут к повышению себестоимости рыбы. Перевод производства рыбы на двухлетний оборот с комплексом мероприятий по повышению средней массы товарного двухлетка позволит снизить материальные и трудовые затраты и повысить качество выпускаемой продукции.

Результаты проведенных исследований имеют перспективы как в практическом, так и в научном отношении и подтверждают необходимость дальнейшего усовершенствования технологии выращивания рыбопосадочного материала карпа. Большой научный интерес представляет изучение эффективности технологии во всех зонах прудового рыбоводства.

Важно отметить, что прудово-индустриальный метод получения рыбопосадочного материала карпа, с дальнейшим выращиванием товарной рыбы, может быть перспективен и в условиях севернее первой зоны тепловодного рыбоводства.

Таблица 1

Рыбоводные показатели СГУП «Рыбхоз «Пихтовка» за 2016-2018 гг.

Год	№ пруда	S пруда, га	Средняя масса, г		Количество, тыс. шт.		% выхода	Плотность посадки, тыс. шт./га
			весна	осень	весна	осень		
2016	ВП-1	17	-	56	111,5	80,5	70	6,6
	ВП-2	17	45	422	126,3	113,7	90	7,4
	ВП-6	12	40,6	360	123,7	94,0	75,9	10,3
	НП-6	45	40,6	613	209,1	160,4	76,7	4,6
	НП-8	20	45	520	244,8	206,1	84,2	12,2
2017	ВП-5	20	40	316	202,5	191,6	94,6	10,1
	ВП-6	12	40	410	156,43	130	83,3	13
	НП-6	45	42	850	112,26	101	90,1	2,5
	НП-8	20	35	782	113,1	107	95	5,7
2018	ВП-1	17	37	650	55,57	54	97,04	3,3
	ВП-3	15	44	829	47,73	45	93,78	3,2
	ВП-5	20	35	210	307,54	261	85,01	15,4
	ВП-6	12	35	230	245,5	234	93,9	20,5
	НП-8	20	35	325	286	276	94,8	14,3

#### Библиографический список

1. Крылова Т.Г., Крылов Г.С., Докучаев П.В. Влияние плотности посадки на темп роста личинок карпа в мальковых прудах // Вестник ветеринарии. 2014 № 2 (69). С. 88–90.
2. Крылов Г.С. Адаптивная технология выращивания рыбопосадочного материала карпа в рыбхозе «Пихтовка» Удмуртской Республики // Аграрная наука – состояние и проблемы : труды регион. научн.-практ. конф. Т. 1. Ижевск: Изд-во ФГОУ ВПО ИжГСХА, 2002. С. 321–332.
3. Стратегия развития аквакультуры в Российской Федерации на период до 2020 года (утв. Минсельхозом РФ 10.09.2007). [Электронный ресурс] URL: <http://basexonsuhant.ru/cons/cgi/onhnexgi? req=doc;base=LAW;n=98465> (дата обращения: 21.03.2019).

# ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ САРАНЧОВЫХ (INSECTA: ORTHOPTERA: ACRIDOIDEA) В СЕВЕРНОЙ И ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ КУЛУНДИНСКОЙ РАВНИНЫ

Попова К.В.

Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., профессор Сергеев М.Г.**

Саранчовые – одно из самых многочисленных и хорошо исследованных семейств прямокрылых насекомых. Они характеризуются не только резкими подъемами численности, но и высоким видовым разнообразием. Наиболее обычны они в лесостепных, степных, полупустынных и пустынных районах земного шара. Саранчовые являются незаменимым компонентом в трофических цепях, являясь не только составной частью кормовой базы целого ряда животных, но и важнейшими консументами 1-го порядка [1]. Юго-восток Западной Сибири, в первую очередь степная Кулундинская равнина, – один из регионов, где биогеоценотическая деятельность этих насекомых наиболее заметна и где периодически происходят вспышки их массового размножения, в первую очередь итальянского пруса.

Основная цель работы: выявление закономерностей распространения саранчовых в степях северной и центральной части Кулундинской равнины.

Проанализированы материалы 11 учетов, проводившихся в 2018 г. в плакорных станциях. В каждом исследуемом участке проводились учеты стандартным сачком в течение определенного промежутка времени с последующим пересчетом на час [2]. Для оценки различий в распределении видов использовано эвклидово расстояние. Дендрограммы построены с использованием метода Уорда, основанном на минимизации внутригрупповой дисперсии расстояний между объектами на каждом этапе объединения в группы.

В степных станциях нами обнаружено 22 вида саранчовых. Наиболее часто встречаемые виды: *Euchorthippus pulvinatus*, *Omocestus haemorrhoidalis* и *Dociostaurus brevicollis*. Самые редкие – *Myrmeleotettix antennatus*, *M. maculatus*, *Chorthippus apricarius*, *Ch. parallelus*, *Ch. fallax*, *Stenobothrus lineatus*, *S. nigromaculatus* и *S. fischeri*.

Высокое обилие характерно для таких видов, как *Euchorthippus pulvinatus*, *Omocestus haemorrhoidalis*. Низкая численность характерна для *Ch. parallelus*, *Ch. fallax*, *Stenobothrus lineatus*, *S. nigromaculatus*, *S. fischeri*, *Myrmeleotettix antennatus*.

Классификация видов по предпочитаемым степным станциям позволяет выделить три группы (рис.1):

1) включает только *Euchorthippus pulvinatus*, что, вероятно, определяется его адаптацией к злаковым степям и высоким уровнем обилия;

2) объединяет *Chorthippus karelini*, *Omocestus petraeus*, *O. haemorrhoidalis*, *Dociostaurus brevicollis*, *Myrmeleotettix pallidus* (всего 5 видов); в учетах данные виды характеризуются высоким уровнем обилия и приуроченностью в основном к сухим степям с большим количеством разнотравья и присутствием злаков;

3) включает 16 видов, а именно *Glyptobothrus biguttulus*, *G. mollis*, *Stenobothrus lineatus*, *S. eurasius*, *S. fischeri*, *S. nigromaculatus*, *Euthystira brachyptera*, *Myrmeleotettix antennatus*, *M. maculatus*, *Calliptamus italicus*, *Arcyptera microptera*, *Oedaleus decorus*, *Chorthippus albomarginatus*, *Ch. parallelus*, *Ch. fallax*, *Ch. apricarius* (16 видов).

Распространение саранчовых в Кулундинской равнине характеризуется следующими особенностями: *Chorthippus parallelus*, *Oedaleus decorus*, *Arcyptera microptera*, *Stenobothrus nigromaculatus* и *Stenobothrus lineatus* приурочены к более северной части равнины. К центральной части Кулундинской равнины тяготеют *Myrmeleotettix antennatus*, *M. maculatus*, *Glyptobothrus biguttulus*, *Omocestus petraeus*, *Stenobothrus fischeri*. *Euchorthippus pulvinatus* и остальные обнаруженные саранчовые широко распространены как в северной, так и в центральной части Кулундинской равнины.

Таким образом, закономерности распространения саранчовых в степях северной и центральной части Кулундинской равнины позволяют сделать вывод о том, что *Euchorthippus pulvinatus* равномерно распределен на исследуемой территории, что обусловлено приспособленностью данного вида к степным экосистемам различного уровня увлажненности, виды *Chorthippus karelini*, *Omocestus petraeus*, *O. haemorrhoidalis*, *Dociostaurus brevicollis*, *Myrmeleotettix pallidus* тяготеют в большей степени к сухим степям, с преобладанием злаковой растительности, что соответствует северной и центральной частям Кулундинской равнины [3]. К северным районам равнины, в которых представлены луговые степи, приурочены следующие виды саранчовых: *Chorthippus parallelus*, *Oedaleus decorus*, *Arcyptera microptera*, *Stenobothrus nigromaculatus* и *Stenobothrus lineatus*.

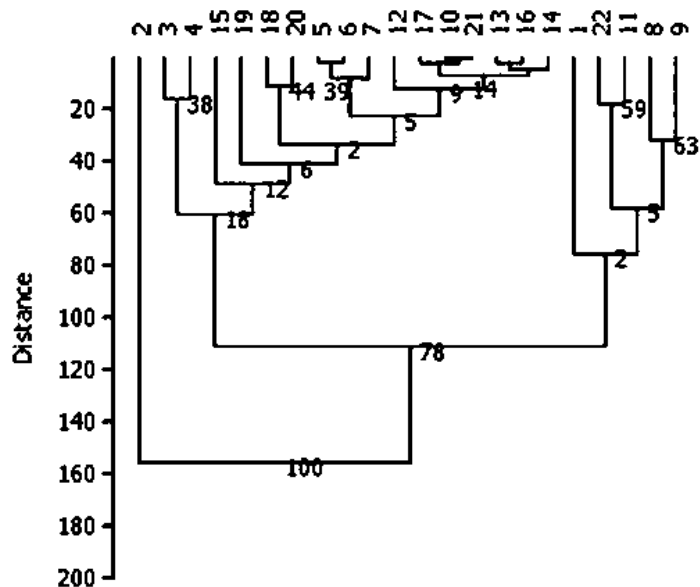


Рисунок 1. Классификация видов саранчовых в Кулундинской равнине: 1. *Chorthippus karelini*, 2. *Euchorthippus pulvinatus*, 3. *Glyptobothrus biggutulus*, 4. *Glyptobothrus mollis*, 5. *Stenobothrus lineatus*, 6. *Stenobothrus nigromaculatus*, 7. *Euthystira brachyptera*, 8. *Omocestus haemorrhoidalis*, 9. *Myrmeleotettix pallidus*, 10. *Myrmeleotettix antennatus*, 11. *Dociostaurus brevicollis*, 12. *Calliptamus italicus*, 13. *Arcyptera microptera*, 14. *Oedaleus decorus*, 15. *Chorthippus albomarginatus*, 16. *Chorthippus parallelus*, 17. *Chorthippus fallax*, 18. *Chorthippus apricarius*, 19. *Myrmeleotettix maculatus*, 20. *Stenobothrus eurasius*, 21. *Stenobothrus fischeri*, 22. *Omocestus petraeus*

#### Библиографический список

Саранчовые Казахстана, Средней Азии и сопредельных территорий / Лачининский А.В., Сергеев, М.Г., Чильдебаев М.К. и др. – Ларами.: Международная ассоциация Прикладной Акридологии и Университет Вайоминга, 2002. – 387 с.

Gause G.F. Studies on the ecology of the Orthoptera // Ecology. - 1930. - Vol.11. - No.2. - P.307–325.

Николаев, В.А. . Ландшафты Азиатских степей. – М.: Изд-во Московского ун-та, 1999. – 288 с.

# СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА НЕМЕЦКИХ И БЕЛЬГИЙСКИХ ОВЧАРОК СЛУЖЕБНОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Романов Е.А.

*Пермский военный институт войск национальной гвардии, г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Садыкова Ю.Р.**

Изучение адаптивных резервов служебных собак, от которых зависит уровень работоспособности, является необходимым мероприятием исследования их функционального состояния. Современные условия содержания и использования собак сопряжены с разными стрессовыми факторами: ухудшением состояния окружающей среды; технологизацией дрессировки и использования; сменой кормовых рационов; скученным содержанием; не всегда успешной социализацией; несовместимостью пары «кинолог-собака» и др. Налицо необходимость введения в практику ранних донозологических тестов, по которым можно объективно оценивать адаптационные реакции животных и прогнозировать в дальнейшем успешность их применения на службе. К одному из таких показателей относится лейкоцитарный индекс стресс-реактивности Л.Х. Гаркави [1; 2]. Наряду с тем, показано, что морфологическая картина дегидратированной сыворотки также может выступать индикатором функционального состояния – нормативного, депрессивного или реактивного [5]. В связи с чем, целью нашей работы было изучение стресс-реактивности служебных собак пород немецкая и бельгийская овчарка (малинуа) одного из питомников войск национальной гвардии Российской Федерации.

Объектом исследования были собаки специального использования пород немецкая овчарка (n=50) и бельгийская овчарка (малинуа) (n=30) в возрасте от 1 до 8 лет разных категорий использования. У собак с соблюдением всех этических принципов получали венозную кровь, которую использовали для приготовления мазка и подсчета в нем лейкоцитарной формулы, и для получения сыворотки, из которой готовили микропрепараты методом «открытая капля» для получения кристаллограмм [4], для выборки немецких овчарок – у 25 особей, в группе сравнения – у 15 собак. Мазки крови и кристаллограммы микроскопировали и регистрировали результат. Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием программы М.Ехсel. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Лейкоцитарный профиль изучаемых животных в целом нормативен, за исключением эозинофилии, отмеченной у 38% немецких и 33% бельгийских овчарок (более 10% эозинофилов) и достоверного моноцитоза у 16% малинуа.

Таблица 1

Лейкоцитарный профиль немецких овчарок и малинуа

Показатели крови		Немецкие овчарки	Бельгийские овчарки	Диапазон нормы [3]
Лейкоциты, кл. х 10 <sup>9</sup> /мл		11,8±0,46	9,3±0,42	6,0–14,0
Лейкоформула, %	палочкоядерные нейтрофилы	0,8±0,21	0,5±0,14	0–4
	сегментоядерные нейтрофилы	63,7±1,33	62,1±2,32	43–78
	эозинофилы	9,5±1,00	9,8±1,23	1–4
	моноциты	2,8±0,08	4,0±0,16*	3–8
	лимфоциты	22,9±1,03	23,6±1,22	14–25
Индекс Гаркави		0,38±0,02	0,41±0,033	0,3–0,5
Тип реакции адаптации		повышенная активация	повышенная активация	спокойная, повышенная активация

Мало отличались морфологические показатели крови у собак до пяти старше пяти лет, что свидетельствует о стабильности показателей в зрелом возрасте. Также не было достоверной зависимости и от половой принадлежности. Лейкограмма широко используется также в определении адаптивных возможностей. Неспецифические адаптационные реакции организма – система неспецифических реакций организма на действие раздражителей малой, сверхмалой и средней интенсивности. Возможны реакция стресса, тренировки, активации (различают спокойную и повышенную активацию), переактивации. Сигнальным показателем является содержание лимфоцитов в лейкоформуле и лимфоцитарный индекс, отражающий соотношение лимфоцитов и нейтрофилов крови [1]. По этому показателю обнаружена тенденция к более выраженным сдвигам от нормативной адаптивной функции в группе бельгийских овчарок, среди которых было больше (60%) особей с переактивацией и стрессом, в группе сравнения – только 42% (рис. 1). В обеих группах достоверные отличия отмечены в зависимости от категории службы: меньше лейкоцитов у ремонтных, самое высокое количество – у минно-розыскных собак. В выборке немецких овчарок животных с переактивацией было по 29% в патрульно- и минно-розыскной группах и у 27% ремонтных собак. У 45% минно-розыскных, у 60% патрульно-розыскных и 50% ремонтных бельгийских овчарок индекс был выше, говоря о низкой адаптивности ( $p \leq 0,05$ ).

Синхронный анализ кристаллограмм подтвердил указанную выше тенденцию к отклонению от нормативной стресс-устойчивости у малинуа.

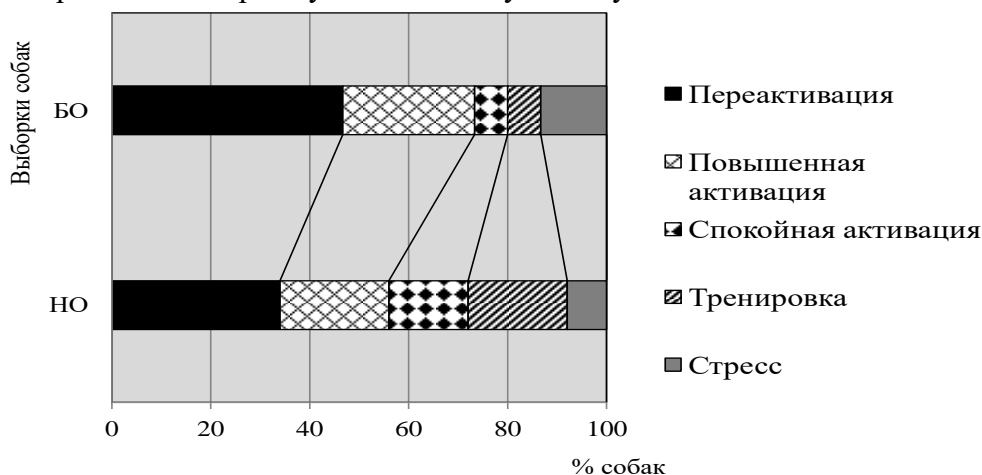


Рис. 1. Адаптационный потенциал немецких и бельгийских овчарок по индексу Гаркави

В обеих выборках – умеренная обратная связь ( $r = -0,33$ ) индекса адаптации и типа сыворотки. В первой группе было 56% собак с нормативным, 40% – реактивным, 4% – депрессивным статусом, среди собак группы сравнения – по 33%, 27% и 40% соответственно. Особенно депрессивен статус у минно-розыскных бельгийских овчарок.

Таким образом, полученные объективные результаты свидетельствуют о более высоком адаптационном потенциале немецких овчарок по сравнению с бельгийскими овчарками (малинуа), которыми активно пополняются силовые структуры. Для прогнозирования стресс-устойчивости рекомендуем применять оценку адаптивного потенциала служебных собак по лейкоцитарной формуле и кристаллограмме сыворотки крови.

### Библиографический список

Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма. Ростов-на-Дону: Наука, 1990. 120 с.

Севрюков А.В. и др. Физиолого-биохимические показатели крови собак при алиментарном стрессе // Успехи современного естествознания. 2014. № 11. С. 42–48.

Уиллард М.Д., Тведтен Г., Торнвальд Г. Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных. М.: Аквариум, 2004. 431 с.

Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей в клинической лабораторной диагностике // Клиническая лабораторная диагностика, 2002. № 3. С. 25–32.

Шац Е.И., Аюпова А.К. Скэнar-терапия в комплексе реабилитационных мероприятий у больных лепрой. // Вестник дерматологии. 2002. № 4. С. 36–43.

## ПАЗИТЫ АКВАРИУМНЫХ РЫБ В УСЛОВИЯХ ПОЛНОСИСТЕМНОГО БАСЕЙНОВОГО ХОЗЯЙСТВА

Селезнева А.А.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Костицына Н.В.**

Целью данной исследовательской работы было изучение паразитов и болезней аквариумных рыб в полносистемном проточном рыбоводном хозяйстве.

Для постановки диагноза при подозрении на какое-либо заболевание рыб требуется проведение комплекса исследований, который включает в себя: клинический осмотр стада рыб, патологоанатомическое вскрытие рыб и лабораторные исследования. Диагноз ставили на основании сопоставления литературных данных и результатов изучения рыб [1, 2, 4].

Исследования проводили в городе Перми на рыбоводном хозяйстве по разведению аквариумных рыб с 25 мая по 27 июля 2017 года. В течение одного дня обследовали 10 особей из трех бассейнов, что суммарно составило около 400 рыб.

За время наблюдения на рыбоводном хозяйстве были отмечены следующие заболевания.

Микобактериоз (туберкулез) – бактериальное заболевание. Наиболее часто встречаемое на хозяйстве заболевание, не является видоспецифичным. Экстенсивность инвазии в одной рыбоводной емкости достигала 20%. Лечение не проводили, так как оно признано не рентабельным в условиях аквариумного хозяйства.

Сапролегниоз – один из самых распространенных микозов рыб. На хозяйстве данное заболевание отмечали только у рыб вида макропод (*Macropodus opercularis*, Linnaeus, 1758) [3], связано это с тем, что у этих рыб довольно агрессивный характер, их травмированные плавники и стали питательной средой для грибка. Экстенсивность инвазии достигала около 20%. В качестве лечения были назначены ванны с пищевой солью (2-4% раствор с экспозицией 15 мин.) в течение 3 дней.

Костиоз – протозойное заболевание, паразит проявляет широкую видовую специфичность. Он был занесен с плохо промытыми растениями, на которых остались цисты костий. Поражено до 70% рыб в тех бассейнах, где обнаружен паразит. Для лечения животных были назначены кратковременные ванны с пищевой солью (2-4% раствор пищевой соли с экспозицией 15 минут, общее время лечения – 3 дня) и ванны с формалином (1 мл формалина на 5-6 литров воды с экспозицией 12 минут, общее время лечения – 3 дня).

Гексамитоз – протозойная болезнь рыб. На хозяйстве гексамитоз отмечен у пятнисто-голубой акары (*Aequidens pulcher*, Gill, 1858) [3] в одном бассейне, причем лишь у 10% от всех рыб имелись язвы на голове, то есть экстенсивность инвазии составляла 100%, но лишь у 10% степень инвазии достигала максимума. В целях лечения в данной рыбоводной емкости использовали гипертермическую обработку, то есть повышение температуры воды до 33-35°C. Повышение температуры проводили постепенно, каждые сутки на 3-4°C.

Плейстофороз – инвазионная болезнь. На хозяйстве заболеванию были подвержены голубые неоны (*Paracheirodon innesi*, Myers, 1936) [3], причем в наихудшем состоянии (с

образованием в мускулатуре панспоробластов) оказалось около 30% стада. Лечение данного заболевания не разработано, в качестве профилактической меры неоны были отсажены в карантинный аквариум с температурой воды 25-27°С на 4 недели.

Ихтиофтириоз – инвазионное заболевание. Паразит был обнаружен на только что привезенных из Таиланда скаляриях (*Pterophyllum scalare*, Schultze, 1823) [3], экстенсивность инвазии составляла 50%. Рыбы сразу были помещены в карантинный аквариум. Проводили лечение в виде ванн с метиленовым синим (25 мл красителя на 10 л воды с экспозицией 30 минут, общее время лечения – 3 дня).

Триходиноз – инвазионное заболевание, паразит не является видоспецифичным, часто поражает рыб, подвергшихся стрессу. Экстенсивность инвазии в одной рыбоводной емкости обычно составляла 30%. Для лечения были использованы лечебные ванны с малахитовым зеленым (25 мл на 10 л воды с экспозицией 30 минут). Лечение проводили до исчезновения внешних симптомов.

Гиродактилез – моногениоз, возбудителем заболевания являются моногенетические сосальщики, поражающие жабры рыб. На хозяйстве данный паразит был обнаружен у рыб из самых различных аквариумов. Связано это с неправильной техникой очищения фильтров аэраторов. Лечение заключалось в кратковременном содержании рыб в солевых ваннах (2-4% раствор с экспозицией 15 минут) в течение трех суток.

Аргулез – эктопаразитическое заболевание, крустацеоз. На рыбоводном хозяйстве паразит отмечен у черных телескопов (*Carassius gibelio forma auratus*, Bloch, 1782) [3], недавно привезенных из другого хозяйства. Паразиты были сняты с поверхности кожи рыб с помощью пинцета и утилизированы вместе с растительностью аквариума. Экстенсивность инвазии у рыб составила 20%. Все рыбы были переведены в аквариум-отсадник на 4 недели.

Таким образом, можно увидеть, что самыми распространенными заболеваниями на рыбоводном хозяйстве оказались микобактериоз и гиродактилез. Скалярии (*Pterophyllum scalare*, Schultze, 1823) [3] и Голубые неоны (*Paracheirodon innesi*, Myers, 1936) [3] были подвержены заболеваниям чаще остальных видов рыб хозяйства. Проникновение возбудителей на рыбоводное предприятие связано с закупом рыбы и растений в других хозяйствах (в том числе и в Таиланде) с целью дальнейшего разведения. Из-за трудоемкости процесса дезинфекции рыбоводного инвентаря некоторые виды возбудителей заболеваний, даже при проведении лечебных мероприятий в отдельных рыбоводных емкостях, могут сохраниться на рыбоводном хозяйстве.

#### **Библиографический список**

Васильков Г. В., Грищенко Л. И. и др. Болезни рыб и основы рыбоводства. М.: Колос, 1999. 456 с.

Корзюков Ю. А. Болезни аквариумных рыб. М.: Колос, 1979. 184 с.

Нельсон Д. С. Рыбы мировой фауны. М., 2009. 880 с.

Ткаченко В. Д. Основные болезни аквариумных рыб. М.: Аквариум, 2005. 240 с.

## **ФАКТОРЫ, ПРОВОЦИРУЮЩИЕ ПРОЯВЛЕНИЕ АГРЕССИИ НА ЧЕЛОВЕКА У СЛУЖЕБНЫХ СОБАК**

Смыков В.Ю.

*Пермский военный институт войск национальной гвардии, г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: доцент, к.б.н. Корнилова Е.А.**

Служебные собаки – особый вид специального средства, состоящий на вооружении войск национальной гвардии Российской Федерации, применяемого специалистами кинологической службы для выполнения служебно-боевых задач мирного и военного времени [1].

Проявление агрессии на человека характерно для категории патрульно-розыскных собак, предназначенных для поиска по запаховым следам, обнаружения и задержания преступников, правонарушителей, и в том же числе вооруженных, а так же выборки вещи и человека, обыск помещений и местности.

Как известно, агрессия удовлетворяет потребности организма посредством физического или психического подавления других особей либо физического устранения препятствий; жизненный опыт может сделать ее основной инструментальной мотивацией. Агрессия на человека не является самостоятельной формой и создается на основе любых агрессивных мотиваций, таких как социополовая, территориальная или агрессия, вызванная страхом и помехой. При формировании агрессивных реакций у собаки складывается представление о том, как должен выглядеть объект агрессии. Животному удобно идентифицировать «образ врага» по минимальному количеству признаков, которые в норме должны быть функциональными, а не атрибутивными [2].

В нашем исследовании мы постарались выявить, какие факторы, провоцируют проявление агрессии на человека у служебных собак.

Объектами нашего исследования были собаки породы немецкая овчарка учебного комплекса Пермского военного института (n=25 особей, старше двенадцати месяцев) двух категорий предназначения: патрульно-розыскные (ПРС) и минно-розыскные (МРС).

В качестве раздражителей, провоцирующих проявление агрессии, учитывался: уровень агрессивного поведения людей (от нейтрального до очень агрессивного), принимавших участие в эксперименте, по отношению к собакам, пол человека, его одежда (шорты, гражданская одежда, военная форма или дрессировочный костюм), наличие прутика, палки или дрессировочного стека.

С практической точки зрения для нас важнее всего определять, момент когда собака готова совершить нападение и, вообще, настроена враждебно или миролюбиво по отношению к человеку. Интерпретировать ее поведение возможно, зная богатый репертуар характерных демонстративных поз и мимически движений [3, 4, 5].

Анализ преобладающих социальных реакций у собак в зависимости от уровня их агрессивного поведения представлен на рисунке 1. При высоком уровне агрессии собаки активно нападали или оборонялись, при среднем – были насторожены, либо нейтральны. Если собака не проявляла агрессии, то ее поведение могло быть нейтральным, либо собака испытывала страх с явным желанием предотвратить угрозу, либо выказывала спокойное приветствие.

Исходя из продемонстрированных сигналов, мы оценивали степень агрессии собак, проявляемую ими в ответ на провокацию человека, в балловом эквиваленте (отсутствует, слабо или сильно выражена). Анализ выявил неодинаковую реакцию собак разных категорий предназначения: патрульно-розыскные атакуют человека показывающего высокий и средний уровень агрессии, а при минимальном – нейтральны (рис. 2); в то время как большинство минно-розыскных демонстрируют знаки приветствия со среднего уровня. Кроме того, нами зафиксировано, что агрессивная реакция немецких овчарок достоверно выше, как на мужчин ( $t_d=3,1$ , при  $p=0,05$ ), так и на человека в костюме фигуранта ( $t_d=2,4$ ) и не зависит от уровня проявляемой агрессии человека.

Итак, провоцирующее поведение человека (функциональный атрибут) является основным фактором научения патрульно-розыскных собак Росгвардии, что приводит к закреплению поведенческого комплекса «инструментальная агрессия» и улучшает эффективность применения служебных животных. Для минно-розыскных собак в силу специфики их обучения и применения более значимы атрибутивные раздражители, такие как пол человека, одежда или наличие палки в руках.



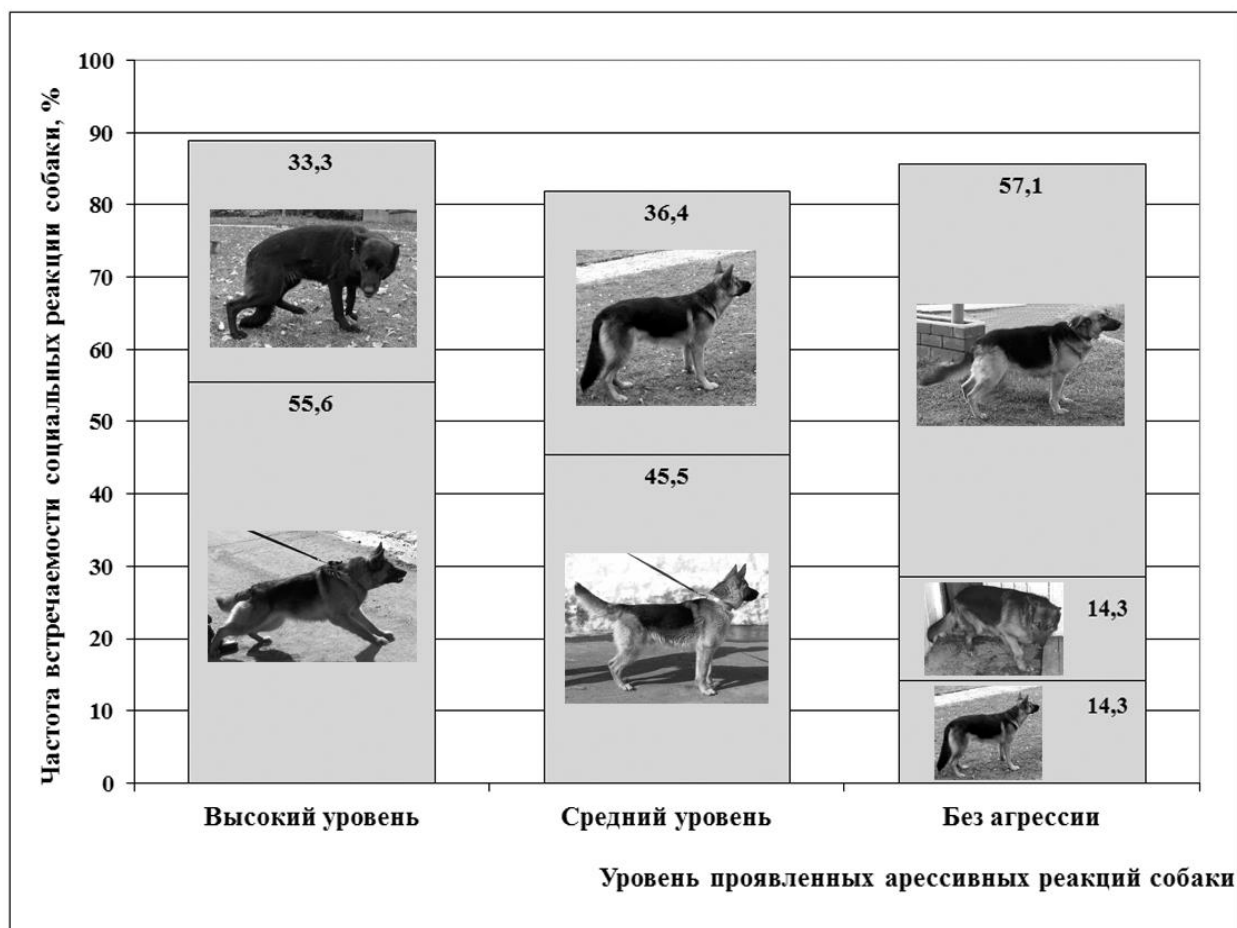


Рис. 1. Проявленные преобладающие социальные реакции у собак в зависимости от уровня их агрессивного поведения

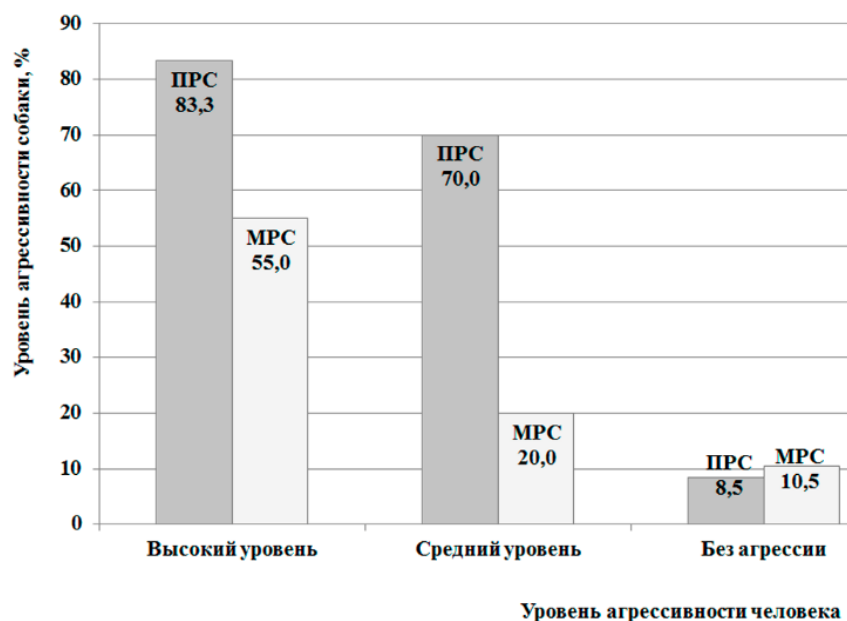


Рис. 2. Выраженность ответных реакций собак разных категорий предназначения на уровень агрессивного поведения человека

### Библиографический список

1. О войсках национальной гвардии РФ: Федеральный закон от 03.08.2016 г., № 226-ФЗ.

2. Мычко Е.Н., Сотская М.Н., Беленький В.А., Журавлев Ю.В. Поведение собаки. – М.: ООО Аквариум-Принт, 2005. – 400 с.
3. Лоренц К. Обратная сторона зеркала. Так называемое зло. К естественной природе агрессии. Пер. с нем. – М.: Республика, 1998. – 393 с.
4. Оверолл К. Клинические методы коррекции поведения собак и кошек. Пер. с англ. – М.: Софион, 2005. – 641 с.
5. Шеперд К. Поведенческое развитие, социальное поведение и коммуникация у собак // Руководство по поведенческой медицине собак и кошек. Пер. с англ./ под ред. Д. Хорвитц, Д. Миллса, С. Хит. – М.: Софион, 2005. С. 10–27.

## **К ИЗУЧЕНИЮ ФАУНЫ И ЭКОЛОГИИ СЛЕПНЕЙ (DIPTERA, TABANIDAE) ТРОИЦКОГО ЗАКАЗНИКА**

Стольников П.А.

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Лямин М.Я.**

Работа проводилась на территории Государственного Троицкого комплексного заказника, расположенного на границе лесостепной и степной зон Южного Зауралья (Троицкий район, Челябинской области) в период с 7 июня по 11 июля 2018 года. Целью данной работы было изучение видового состава, структуры населения и динамики сезонного лёта слепней. Сбор материала осуществлялся двумя видами ловушек: шатровая ловушка и коническая ловушка. Коническая ловушка применялась только для сбора слепней с неё в конце дня. Шатровая ловушка использовалась для учетов слепней так же как и коническая (ловушко-день), а также для проведения полных дневных учетов (ежечасно по 20 минут) в течение светлого времени суток. При проведении полных дневных учетов измерялась ежечасно температура воздуха, его относительная влажность, освещенность, а также скорость ветра. Определения слепней осуществлялись по определителю Н. Г. Олсуфьева [1] и монографии Н. А. Виоловича «Слепни Сибири» [2].

В результате проведенного исследования было отловлено 1917 экземпляров слепней 16 видов из 5 родов (Таблица). Как видно из таблицы доминировали представители рода *Hybomitra*, а именно – *H. ciureai* и *H. bimaculata*, на долю которых приходилось 69,80% и 7,77%, соответственно. Менее многочисленными были виды *Hybomitra muehlfeldi* (7,04%) и *Tabanus bromius* (4,59%). Наиболее редкими видами оказались *Chrysops divaricatus* (0,16%) и *Tabanus autumnalis* (0,10%), кроме того впервые отмеченными на территории Троицкого заказника были два вида - *Hybomitra serpentana* и *Tabanus sabuletorum*.

На рисунке представлена сезонная динамика лёта слепней. Как видно из диаграмм, в сезонной динамике лёта, не зависимо от метода отлова, наблюдается один пик численности, приходящийся на 1 декаду июля, что было связано с более благоприятными условиями для активности слепней.

### **Библиографический список**

- 1) Олсуфьев Н.Г. Слепни (сем. Tabanidae) Фауна СССР. т.7, Выпуск 2. Л. «Наука», 1977. 435с.
- 2) Виолович Н.А. Слепни Сибири. Новосибирск. «Наука», 1968. 281с.

Таблица

Видовой состав и структура населения слепней (по результатам сборов в 2018 году)

Виды слепней	Ловушко-день (коническая ловушка)		Ловушко-день (шатровая ловушка)		Полный дневной учет (шатровая ловушка)		Всего	
	Экз.	%	Экз.	%	Экз.	%	Экз.	%
<i>Atylotus pallitarsis</i> <i>Olsufjev, 1937</i>	5	3,86	0	0	4	0,33	9	0,47
<i>Atylotus rusticus</i> <i>Linne,</i> <i>1767</i>	0	0	1	0,77	3	0,25	4	0,21
<i>Chrysops divaricatus</i> <i>Loew, 1858</i>	0	0	1	0,77	2	0,17	3	0,16
<i>Haematopota pluvialis</i> <i>Linne, 1758</i>	23	3,97	0	0	22	1,82	45	2,34
<i>Haematopota</i> <i>subciyindrica</i> <i>Pandelle,</i> <i>1883</i>	34	5,86	0	0	5	0,40	40	2,08
<i>Hybomitra bimaculata</i> <i>Macquart, 1826</i>	5	0,86	6	4,62	128	11,43	149	07,77
<i>Hybomitra ciureai</i> <i>Seguy,</i> <i>1937</i>	417	71,90	69	53,08	852	70,59	1338	69,80
<i>Hybomitra lurida</i> <i>Falen,</i> <i>1817</i>	1	0,17	1	0,77	7	0,60	8	0,42
<i>Hybomitra montana</i> <i>Meigen, 1820</i>	2	0,34	1	0,77	6	0,49	9	0,47
<i>Hybomitra muehlfeldi</i> <i>Brauer, 1880</i>	34	5,82	28	21,53	73	6,04	135	7,04
<i>Hybomitra nitidifrons</i> <i>confiformis</i> <i>Chvala et</i> <i>Moucha, 1971</i>	0	0	15	11,54	58	4,80	73	3,82
<i>Hybomitra serpentana</i> <i>Szilady, 1914</i>	0	0	1	0,77	5	0,41	6	0,31
<i>Tabanus autumnalis</i> <i>Linne, 1761</i>	2	0,34	0	0	0	0	2	0,10
<i>Tabanus bovinus</i> <i>Linne,</i> <i>1758</i>	4	0,69	0	0	2	0,17	6	0,31
<i>Tabanus bromius</i> <i>bromius</i> <i>Linne, 1761</i>	47	8,10	6	4,62	35	2,90	88	4,59
<i>Tabanus sabuletorum</i> <i>Leew, 1874</i>	0	0	0	0	1	0,08	1	0,05
Итого:	580	100	130	100	1207	100	1917	100

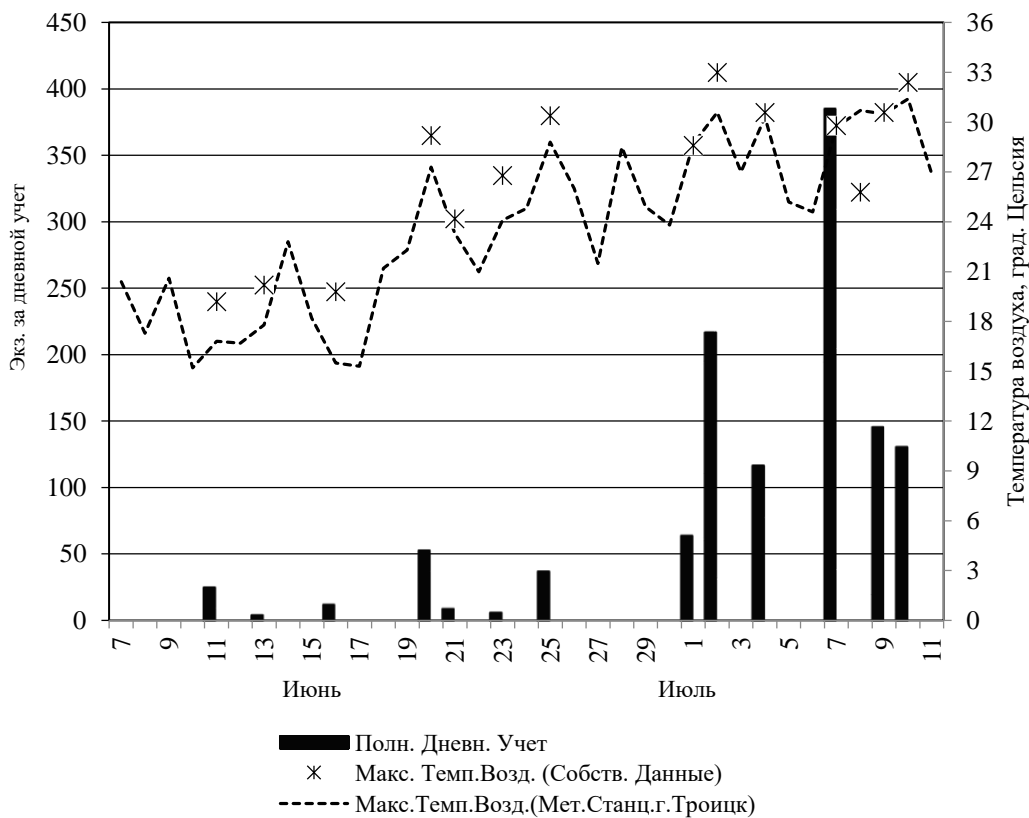
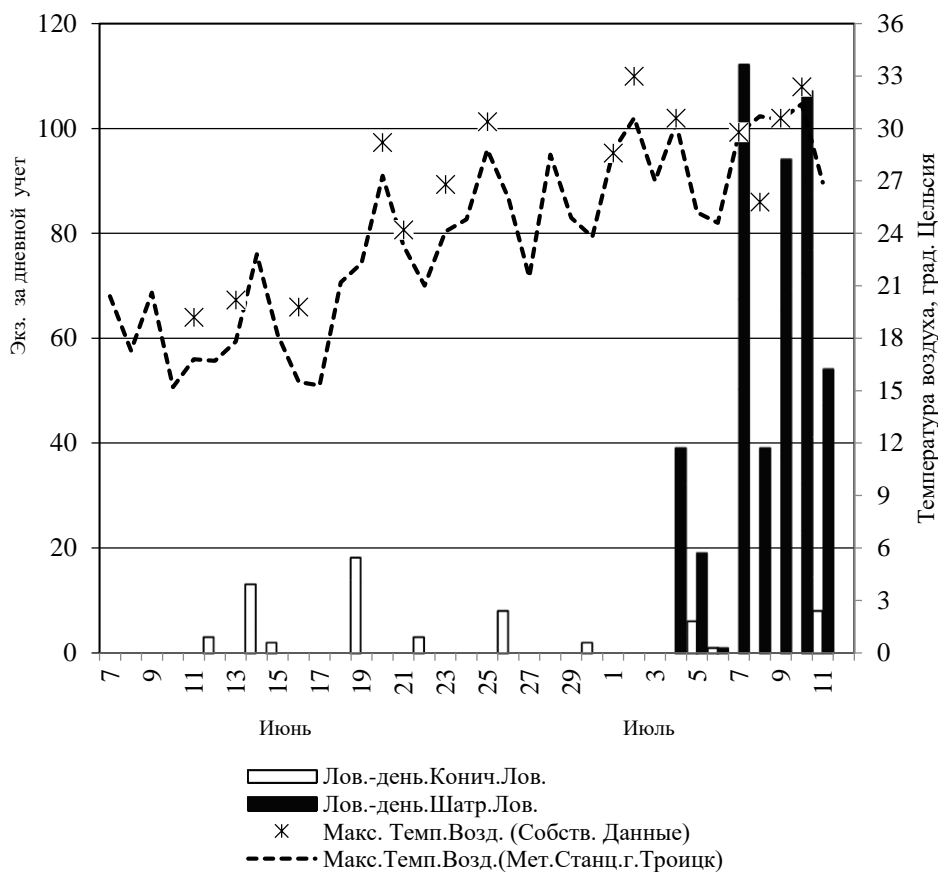


Рисунок. Сезонная динамика лета слепней, по результатам различных типов учетов.

# УЧЕТЫ КОРОСТЕЛЯ НА ТЕРРИТОРИИ ЗАКАЗНИКА «ПРЕДУРАЛЬЕ»

Сухорукова Д.А.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н. Наумкин Д.В.**

Учеты численности птиц – важный компонент исследований их биологии. На них строится долговременный мониторинг, позволяющий давать оценки состояния видов в природе. Коростель *Crex crex* является обычным гнездящимся видом Пермского края, однако данных о его численности в регионе в конкретных цифрах в опубликованной литературе нет [1; 2; 3]. Это относится и к старейшей ООПТ нашего региона – заказнику «Предуралье». В настоящее время на его территории не представляется возможным проследить динамику численности популяции коростеля из-за отсутствия учетных данных. Именно в получении этой информации заключается актуальность нашей работы.

Район исследований – заказник «Предуралье» в Кишертском районе края. Территория заказника протянулась узкой полосой вдоль р. Сылвы, ее площадь 2990 га [4]. Флора отличается разнообразием, растительность, наряду с лесами различных типов, представлена и лугами. Суходольные луга располагаются в верхней части коренного склона речной долины. В них преобладают злаково-разнотравные сообщества. Высота травостоя в период исследований составила в среднем 70 см. Пойменные луга располагаются на прирусловой террасе р. Сылва. В них представлена кустарниковая и травянистая растительность, которая образована луговым разнотравьем с примесью злаков. Высота травостоя – в среднем около 60 см.

Для проведения учетов были выбраны три локации: д. Верхние Частые, суходольные и пойменные луга в ее окрестностях. Птиц (кричащих самцов) учитывали по голосам на произвольных маршрутах в полосе шириной 100 м по методике Р.Л. Наумова [5]. Цель исследования – расчет плотности кричащих самцов коростеля в период гнездования. Для этого на указанной территории было необходимо провести подсчет особей на маршрутах, далее рассчитать количество особей на 1 км<sup>2</sup> предпочитаемых биотопов. Результаты учетов представлены ниже в таблице 1.

Пересчет количественных данных осуществляли с использованием формулы Р.Л. Наумова [5]:

$$X = Q / (L * D) * A, (1)$$

где X – плотность населения птиц на 1 км<sup>2</sup>;

Q – максимальное число учтенных на маршруте птиц;

L – длина исследуемой территории;

D – ширина исследуемой территории;

A – поправочный коэффициент (показатель активности, принимаемый за 0,3 для учета на открытых пространствах).

Показатели D и L представлены ниже в табл. 2.

Таким образом:

$$X_I = (4 / 0,9 * 0,1) * 0,3 = 13 \text{ особей/км}^2$$

$$X_{II} = (2 / 0,7 * 0,1) * 0,3 = 9 \text{ особей/км}^2$$

$$X_{III} = (6 / 1,2 * 0,1) * 0,3 = 15 \text{ особей/км}^2$$

Общая плотность особей на 1 кв. км предпочитаемых угодий:

$$X_{\text{общ.}} = (4 + 2 + 6) / (0,09 + 0,07 + 0,12) * 0,3 = 13$$

В ходе исследования прослеживались изменения в суточной активности самцов. Было выявлено, что наибольшая активность тока проявлялась утром и вечером. Дневная активность была минимальна.

Наибольшее число особей отмечено в пойменных лугах, минимальное – в деревне Верхние Частые. Предположительно это зависит от такого фактора, как характеристика травянистых участков (проективное покрытие и особенно высота травостоя). Так, в пойменных лугах обильна высокая травянистая растительность и отмечено достаточное увлажнение верхних горизонтов почвы, что является крайне благоприятным условием для гнездования. Присутствие людей в деревне Верхние Частые не оказывает особого влияния на птиц: кричащие самцы встречались вблизи человеческих построек, на дачных участках и огородах. В то же время незадолго до начала проведения исследования здесь был проведен скас травы на многих пригодных для гнездования участках, где кричали коростели. Это явно отразилось на полученных результатах (минимальная рассчитанная плотность в населенном пункте). В целом в период проведения учетов (24-30.06) отмечено уменьшение количества встречаемых особей по сравнению со второй декадой июня. Это связано с тем, что учеты начались на завершающей стадии репродуктивного цикла коростеля и совпали с понижением токовой активности самцов. В связи с этим не исключено, что полученные результаты занижены.

Таблица 1

Сроки проведения и результаты учетов коростеля в трех типах станций заказника «Предуралье»

I Суходольные луга		
27.06.2018	20 <sup>00</sup> -21 <sup>00</sup>	4 особи
28.06.2018	7 <sup>00</sup> -8 <sup>00</sup>	2 особи
28.06.2018	19 <sup>30</sup> -20 <sup>00</sup>	4 особи
29.06.2018	5 <sup>45</sup> -6 <sup>15</sup>	3 особи
30.06.2018	15 <sup>00</sup> -15 <sup>30</sup>	1 особь
II д. Верхние Частые		
27.06.2018	20 <sup>30</sup> -21 <sup>00</sup>	1 особь
28.06.2018	5 <sup>30</sup> -6 <sup>00</sup>	0 особей
28.06.2018	20 <sup>30</sup> -20 <sup>45</sup>	0 особей
29.06.2018	5 <sup>30</sup> -5 <sup>45</sup>	2 особи
III Пойменные луга		
24.06.2018	9 <sup>15</sup> -10 <sup>30</sup>	5 особей
25.06.2018	6 <sup>00</sup> -7 <sup>30</sup>	6 особей
28.06.2018	20 <sup>45</sup> -21 <sup>30</sup>	5 особей

Таблица 2

Параметры учетных маршрутов (длина и ширина), км

Локация	L (км)	D (км)
Суходольные луга	0,9	0,1
Деревня Верхние Частые	0,7	0,1
Пойменные луга	1,2	0,1

#### Библиографический список

- Животный мир Прикамья. Пермь: Пермск. кн. изд-во, 1989. 195 с.
- Шепель А.И., Зиновьев А.Е. Животный мир заказника «Предуралье» (позвоночные). Пермь: ПГУ, 1999. 144 с.
- Наумкин Д.В. Птицы Кунгурской островной сосново-березовой лесостепи / Тр. ГПЗ «Басеги». Пермь: изд. П.Г. Богатырев. Вып. 3. 226 с.
- Учебно-научная база «Предуралье» / Вестник Пермского ун-та, 2000. Вып. 3. 328 с.
- Наумов Р.Л. Методика абсолютного учета птиц в гнездовой период на маршрутах // Зоол. журн. 1965. Т. 44, вып. 1. С. 81-94.

**СЕКЦИЯ IV**  
**ЭКОФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ЭКОЛОГИЯ ПОЧВ**  
**ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПОЧВЫ ПАРАЗИТАМИ В ПЕРМСКОМ КРАЕ**

Андросова Ю.В., Еранкин К.О.

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава РФ, г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: к.б.н. Логинова Е.А.**

На данный момент паразитарные заболевания занимают третье место в Пермском крае, после ОРВИ и ветряной оспы. В 2017 г. было зарегистрировано более 12 тыс. случаев паразитарных заболеваний. В Таблице 1 представлены наиболее распространенные из них. [1]

Таблица 1

Заболевание	Показатель заболеваемости (на 100 тыс. населения)	Возбудитель
Энтеробиоз	347,1	Человеческая острица
Лямблиоз	79,8	Лямблия кишечная
Аскаридоз	9,4	Человеческая аскарида
Дифиллоботриоз	8,7	Широкий лентец
Токсокароз	5,7	Токсокара собак

Если рассматривать проблему загрязнения почвы паразитами, то основным источником являются геогельминты (аскариды, острицы, токсокары), яйца которых созревают непосредственно в почве. Цисты лямблий и яйца лентецов, выделяясь с фекалиями, также загрязняют почву, а затем вместе со сточными водами попадают в открытые водоемы.

При санитарно-паразитологических исследованиях внешней среды в 2014 году в почве были обнаружены яйца гельминтов и цисты простейших в 1,5% исследованных проб; в сточных водах - 2,1% проб; в воде открытых водоемов - 0,2% проб; в воде бассейнов - 0,33% проб. [2]

Если рассматривать только яйца аскарид (аскаридоз занимает третье место по распространенности в Пермском крае), то при исследованиях внешней среды в 2017 г. качество почвы не соответствовало требованиям санитарного законодательства в 1,2 % исследованных проб. В сточных водах яйца аскариды были обнаружены в 0,5 % проб, а в воде открытых водоемах - 0,05 % проб. [1]

Отметим, что данные проблемы взаимосвязаны, так как загрязненность почвы паразитами способствует повышению вероятности заражения человека, а, следовательно, повышению уровня заболеваемости паразитарными болезнями и наоборот. Для решения данных проблем необходимо соблюдать меры профилактики:

- Выявление, изоляция и лечение больных
- Дератизация и дезинфекция

- Соблюдение правил личной гигиены населения

- Уничтожение возбудителей болезни во внешней среде. Например, для очистки почвы активно используется водяной пар, подающийся под большим давлением. Он нагревает землю до температуры +80 градусов на глубину до 10 см. Такая методика эффективно убивает яйца практически всех гельминтов. Другой способ — химическая обработка земли. Существуют также специальные растворы, которые используются для обработки земельных участков, предназначенных для выгула собак и кошек. Они способны уничтожить до 100% яиц аскарид. [3]

- Повышение уровня санитарно-гигиенической культуры населения, санитарно-просветительские работы особенно в дошкольных и школьных учреждениях, так как дети входят в группу риска.

- Санитарное благоустройство населенных пунктов. Одним из источников распространения паразитов служат жидкие бытовые отходы (сточные воды, канализации), следовательно, производится очистка отстойников колодцев ливневой канализации 1 раз весной, далее по мере накопления 2-4 раза в сезон.

Итак, на данный момент проблема загрязнения почвы паразитами остается актуальной, что подтверждается достаточно высокими показателями заболеваемости населения гельминтозами и протозоозами на территории Пермского края. Однако, соблюдая несложные меры профилактики, мы можем уберечь почву от дальнейшего загрязнения, а также защитить себя от паразитарных заболеваний.

#### **Библиографический список**

1. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Пермском крае в 2017 году» // П: Управление Роспотребнадзора по Пермскому краю, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Пермском крае», 2018. С. 180-186

2. Постановление Главного государственного санитарного врача по Пермскому краю от 15 октября 2015 года №6 «Об усилении мероприятий по профилактике паразитарных заболеваний на территории пермского края» // URL:<http://docs.cntd.ru/document/430662709>

3. URL: <http://healthruguru.ru/analizy/11906-geogelmintozy-jajca-gelmintov-v-pochve.html> (дата обращения 28.03.19)

## **РАЗДЕЛЬНОЕ И КОМБИНИРОВАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ NaCl– ЗАСОЛЕНИЯ И pH УРОВНЯ КОРНЕВОЙ СРЕДЫ НА ОБЩЕЕ СОДЕРЖАНИЕ И ВОССТАНОВИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ГЛУТАТИОНА В КРЕСС-САЛАТЕ**

Арисова А.К.

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: д.б.н., профессор Еремченко О.З.**

Засоление считается основной экологической угрозой сельскохозяйственным системам; примерно 20% пахотных земель и 50% орошаемых земель во всем мире подвержены засолению [1]. Влиянию солевого стресса на растения давно уделяют внимание, однако засоление почти всегда сопровождается щелочным стрессом. Известны исследования совместного влияния факторов засоления хлоридом натрия – NaCl и щелочности корневой среды на содержание пролина, лимонной кислоты [2], на ростовые показатели [3], фотосинтез, флуоресценцию хлорофилла, содержание неорганических ионов и органических кислот [4] в различных растениях. Аскорбиновая кислота и глутатион – представители



«большой тройки» биологических восстановителей [10], тем самым они участвуют в процессе адаптации растений к стрессам.

Высокий уровень pH в прикорневой среде вызывает беспорядочное поглощение ионов, чем нарушает ионный гомеостаз растения. Так же при сильнощелочной среде могут разрушаться структуры мембран корней, что ведет к нарушениям внутриклеточного ионного баланса [5].

Высокие концентрации  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  в клетках способствуют образованию активных форм кислорода (АФК), что вызывает окислительный стресс [6].

В детоксикации АФК принимает аскорбат-глутатионовый цикл (один из источников мобильных доноров  $e^-$  в редокс-процессах), механизм функционирования которого заключается в восстановлении пероксида водорода до воды с участием аскорбиновой кислоты (АК) и аскорбатпероксидазы. АК в этой реакции окисляется под действием аскорбатпероксидазы до дегидроаскорбата, который снова переходит в восстановленную форму при окислении глутатиона [7].

Цель данной работы – оценка отдельного и комбинированного воздействия NaCl-засоления и щелочности корневой среды на содержание аскорбиновой кислоты и глутатиона в кресс-салате (*Lipidium sativum* L.), а также на его ростовые показатели. Кресс-салат характеризуется высоким конститутивным пулом АК. Исследования проведены в модельных опытах с вариантами отдельного засоления—NaCl 30 мМ, 70 мМ, 100 мМ, 140 мМ, отдельном влиянии щелочности pH 7, 8, 9, 10 и комбинированном действии этих факторов. Растения выращивали на вермикулите в течении 9 дней, на 10 сутки поливали растворами с определённой концентрацией соли и разной реакцией среды. Содержание восстановительной активности аскорбиновой кислоты и глутатиона определяли спустя 12 часов после воздействия стресс-факторов методом Петта-Прокошева, общее содержание АК и глутатиона определяли методом ВЭЖХ через 16 ч. Высоту и массу растений измерили через 2 суток после воздействия стресса в 30-кратной повторности. Результаты исследований обработаны методом двухфакторного дисперсионного и регрессионного анализа.

В ходе проведения опытов было доказано, что отдельное засоление хлоридом натрия (при нейтральной реакции) отрицательно повлияло на высоту кресс-салата. Регрессионный анализ подтвердил прямое влияние фактора засоления (концентрации хлоридов натрия) на снижение высоты кресс-салата. Изучение отдельного влияния щелочности на фоне разной концентрации NaCl показало, что между pH корневой среды и высотой растений нет существенных связей. При комбинированном воздействии факторов также выявлено существенное воздействие фактора засоления на высоту кресс-салата сила влияния 73 % ( $p=0,003$ ,  $F=7,56$ ). С повышением концентрации соли при всех уровнях щелочности имеется тенденция к снижению высоты кресс-салата. При совместном воздействии двух факторов корневой среды влияние щелочности на высоту растений было несущественным.

С повышением концентрации NaCl при нейтральном pH мы наблюдали снижение сырой массы побегов кресс-салата. Регрессионный анализ подтвердил прямое отрицательное влияние фактора засоления (концентрации хлоридов натрия) на высоту кресс-салата; получена следующая зависимость:  $y=13,5-4,22*x$ ,  $R=-0,94$ ,  $F=21,59$ ,  $p=0,001$  (рис.1). Отдельное действие щелочности на сырую массу растений было не существенным.

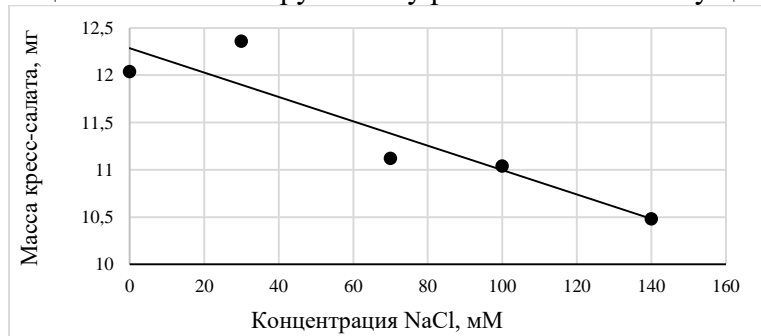


Рис.1. Зависимость массы кресс-салата от концентрации NaCl

При комбинированном воздействии факторов выявлено существенное влияние только фактора засоления на массу кресс-салата сила влияния – 41 % ( $F=4,61$ ,  $p=0,017$ ). Увеличение щелочной реакции среды при комбинации факторов не оказало влияния на массу растений.

Таким образом, сила влияния засоления на массу была ниже, чем на высоту растений. Вероятно, накопление воды, которое наблюдается при засолении, снизило его влияние на сырую массу кресс-салата [8].

Действие факторов проявилось на общем содержании аскорбиновой кислоты (сила влияния щелочности – 68 %, засоления – 26 %). С увеличением концентрации NaCl от 30 до 100 мМ идет накопление аскорбиновой кислоты, как при нейтральной (pH 7), так и при щелочной (pH 9) реакции среды. С увеличением концентрации NaCl до 140 мМ общее количество аскорбиновой кислоты падает на обоих вариантах щелочности, что связано с угнетением растений (рис.2.).

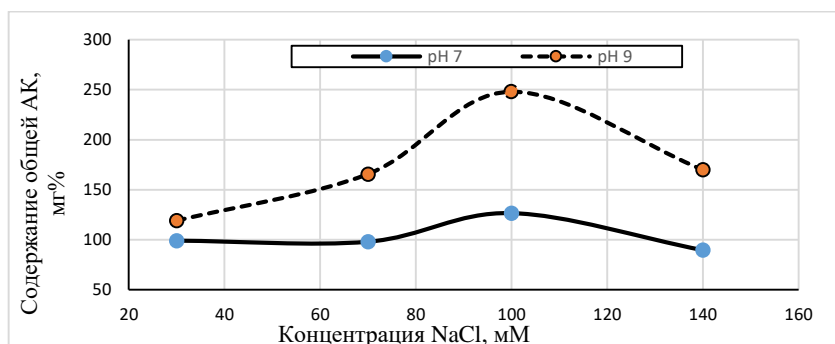


Рис.2. Зависимость между содержанием общей аскорбиновой кислоты и концентрацией хлорида натрия-NaCl при разных уровнях щелочности

Восстановленная форма кислоты аккумулировалась в растениях только под воздействием щелочности. Регрессионный анализ подтвердил прямое влияние фактора щелочности на содержание восстановленной формы аскорбиновой кислоты в надземной части растений; получена следующая зависимость:  $y=3,04+2,26*x$ ,  $R=0,91$ ,  $F=9,54$ ,  $p=0,001$  (рис.3.).

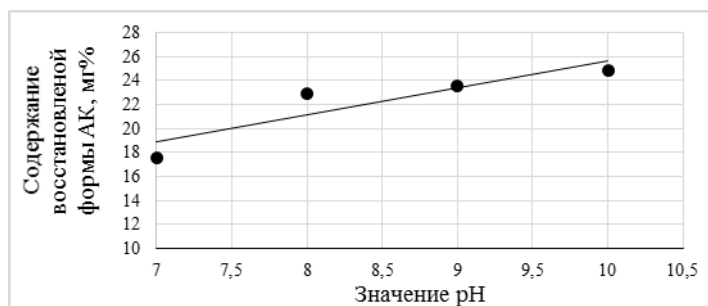


Рис.3. Зависимость содержания восстановленной формы аскорбиновой кислоты в кресс-салате от уровня pH, мг% сырой массы

Согласно полученному уравнению при реакции среды = pH 7 количественное содержание восстановленной аскорбиновой кислоты составляло 18 мг%, а при pH 10 увеличилось до 25 мг%, т.е. на 40 %. Количество восстановленной формы аскорбиновой кислоты в растениях рассматривается как способность к восстановительным реакциям в отношении свободных радикалов. Восстановительная активность аскорбиновой кислоты при окислительном стрессе может быть обусловлена усилением роли аскорбат-глутатионового цикла. Аскорбат-глутатионовый цикл является ключевым для эффективной нейтрализации АФК и поддержания окислительно-восстановительного равновесия клетки [9].

Отдельное действие засоления на содержание восстановленной формы аскорбиновой кислоты в кресс-салате не оказало влияния. Обработка данных двухфакторным

дисперсионным анализом показала, что при комбинированном воздействии факторов на содержание восстановленной аскорбиновой кислоты в кресс-салате существенное воздействие оказало только засоление; но сила влияния фактора не высокая = 18 % (значимость  $p=0,038$ ,  $F=3,59$ ).

При минимальном засолении и на фоне всех значений щелочности отмечено наибольшее содержание общего глутатиона; при более сильном воздействии факторов наблюдалась тенденция к уменьшению его количества. Двухфакторный анализ данных показал, что на содержание количества общего глутатиона оказывало влияние только засоление, сила влияния – 89 % ( $p=0,015$ ,  $F=8,25$ ).

По нашим данным содержание восстановленной формы глутатиона изменялось в широком интервале – от 0 до 26 мг% сырой массы растений. На фоне этой изменчивости закономерных изменений в его содержании с усилением засоления и щелочности не установлено. Возможно, неопределенная изменчивость в содержании глутатиона обусловлена его активным участием в адаптационных процессах [10]. При комбинированном воздействии факторов в соответствии с результатами дисперсионного анализа в наших исследованиях ни один из двух факторов стресса также не оказал достоверного влияния на содержание глутатиона в кресс-салате.

Таким образом, изменение содержания аскорбиновой кислоты и глутатиона в условиях отдельного и комбинированного действия NaCl-засоления и щелочности корневой среды показало, что в адаптационных процессах растений кресс-салата к этим стрессорным факторам принимает участие аскорбат-глутатионовый цикл.

#### **Библиографический список**

1. Läuchli A, Lüttge U. Salinity: environment – plants – molecules. Springer. 2002;552
2. Decheng Shia, Yanmin Shengb. Effect of various salt-alkaline mixed stress conditions on sunflower seedlings and analysis of their stress factors // Environmental and Experimental Botany, 2005. Vol. 54, Issue 1, p. 8-21.
3. Rui Guoa, LianXuan Shib, XueMei Dingd, Yongjun Hue, ShangYi Tiana, DeFu Yana, Shuai Shaob, Yuan Gaoc, Rong Liub and YunFei Yang. Effects of Saline and Alkaline Stress on Germination, Seedling Growth, and Ion Balance in Wheat // American Society of Agronomy, 2010. Vol. 102 No. 4, p. 1252-1260.
4. J. Liu D. -C. Shi. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion and organic acid accumulations of sunflower in responses to salt and salt-alkaline mixed stress // Photosynthetica, 2010. Vol. 48, Issue 1, p. 127–134.
5. Yang C, Xu HH, Wang L, Liu J, Shi DC, Wang D. Comparative effects of salt-stress and alkaline-stress on the growth, photosynthesis, solute accumulation, and ion balance of barley plants // Photosynthetica, 2009. Vol. 47, Issue 1, p. 79–86.
6. Б.Р. Кулуев, З.А. Бережнева, Е.В. Михайлова, Б.Н. Постригань, А.В. Князев Продуктивность и стрессоустойчивость трансгенных растений табака с конститутивной экспрессией гена глутатионсинтетазы рапса BnGSH // Экологическая генетика, 2017. Т. 15. № 1. С. 12-19.
7. Гарифзянов А.Р., Жуков Н.Н. Влияние натрий-хлоридного засоления на содержание компонентов аскорбат-глутатионного цикла в органах тритикале // Известия Тульского государственного университета Естественные науки. 2012. Вып. 3. С. 165-176.
8. Н. Л. Радюкина, А. В. Карташов, Ю. В. Иванов, Н. И. Шевякова, Вл. В. Кузнецов // Физиология растений, 2007. Т.54. № 6. С. 902-912.
9. Aravind P., Prasad M.N.V. Modulation of cadmium induce oxidative stress in *Ceratophyllum demersum* by zinc involves ascorbate glutathione cycle// Plant Physiology and Biochemistry, 2005. Vol. 43, Issue 2, p. 107-116.
10. Е. В. Прадедова, О.Д. Нимаева, Р.К. Салаяев Редокс-процессы в биологических системах // Физиология растений, 2017. Т.64. № 6. С. 433-445.

# СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА А И В В РАСТЕНИЯХ *TRITICUM AESTIVUM* L. И *SECALE CEREALE* L. В УСЛОВИЯХ КИСЛОЙ И ЩЕЛОЧНОЙ ПОЧВЕННОЙ СРЕДЫ.

Боталова К.И.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., профессор Еремченко О.З.**

Актуальность проблемы устойчивости растений к разной реакции почвенной среды связана не только с существованием кислых и щелочных почв, малопригодных для возделывания сельскохозяйственных растений. Изменение реакции почвы – это распространенное последствие агрогенной и техногенной деятельности человека.

Исследование состояние пигментного аппарата имеет важное значение для понимания механизмов адаптации растительных организмов к действию стрессовых факторов. Хлорофиллы а и б являются основными фотосинтетически деятельными компонентами листьев растений. Содержание и соотношение разных форм пигментов в хлоропластах может служить одним из показателей их фотохимической активности [1].

Учитывая, что содержание пигментов в листьях – показатель очень чувствительный к факторам внешней среды, анализ проводили на растениях, выращенных на почве, имеющих значения среды рН 4,9, рН 6,7, рН 8,2. Сильнокислую реакцию имела дерново-подзолистая почва; путем ее известкования получили почву рН=6,7. Щелочность почвы сформировали путем внесения  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

Результаты определения содержания зеленых пигментов свидетельствуют о том, что в вариантах у обоих видов исследуемых растений количество хлорофиллов а и в изменялось при выращивании на почве с разной рН (табл.1, 2). При кислой и щелочной реакции корневой среды у *Triticum aestivum* L. наблюдалось уменьшение как хлорофилла а, так и хлорофилла в, сумма пигментов снизилась на 27-29%. По данным В. Borhannuddin и др. [2], при кислом и щелочном стрессе в пшенице уменьшалось содержание фотосинтетических пигментов. Реакция озимой ржи на разную почвенную среду отличалась: у *Secale cereale* L. при кислой среде сумма хлорофиллов была ниже на 22%, а при щелочной, напротив, наблюдалась тенденция к ее увеличению.

Таблица 1.

Влияние кислотной и щелочной корневой среды на содержание пигментов в растениях  
*Triticum aestivum* L., мг/г сырой массы

Вариант	Хлорофилл а	Хлорофилл в	Отношение хлорофиллов а/в	а+в
рН 6,7	0,810±0,020	0,466±0,023	1,738	1,276
рН 4,9	0,643±0,007*	0,287±0,003*	2,240	0,930
рН 8,2	0,627±0,055*	0,270±0,040*	2,320	0,897

Таблица 2.

Влияние кислотной и щелочной корневой среды на содержание пигментов в растениях  
*Secale cereale* L., мг/г сырой массы

Вариант	Хлорофилл а	Хлорофилл в	Отношение хлорофиллов а/в	а+в
рН 6,7	0,777±0,012	0,340±0,020	2,29	1,117
рН 4,9	0,597±0,003*	0,273±0,003*	2,19	0,870
рН 8,2	0,750±0,000*	0,470±0,003*	1,59	1,22

Примечание. \* - значимые различия с нейтральной почвой

Представляет интерес соотношение хлорофиллов *a* и *b* в растениях. Хлорофилл *a* является компонентом как коровых комплексов, так и периферической антенны фотосистемы I (ФС I) и фотосистемы II (ФС II), тогда как хлорофилл *b* является компонентом периферической антенны обеих фотосистем. Он входит преимущественно в белковый светособирающий комплекс ФС II. Поэтому изучение отношения хлорофиллов *a/b* может рассматриваться как нарушение в стехиометрии между комплексами реакционных центров фотосистем светособирающего комплекса ФС II [2].

Анализ результатов свидетельствует, что при кислой и щелочной реакции корневой среды у *Triticum aestivum* уменьшение содержания хлорофилла *a* было значительнее, чем хлорофилла *b*, поэтому соотношение хлорофиллов в обоих вариантах снижалось относительно контроля.

У *Secale cereale* наблюдалась разная реакция на кислотную и щелочную корневую среду. Анализируя количество фотосинтетических пигментов, отмечаем значимое снижение содержания хлорофиллов *a* и *b* в условиях кислой почвенной среды, а их соотношение снижалось относительно контроля. В условиях щелочной среды наблюдалось значительное повышение количества хлорофилла *b*, что рассматривается как показатель стресса [4]; при этом отношение хлорофиллов *a* и *b* остается таким же, как в растениях на нейтральной почве.

Таким образом, результаты опытов показали, что у злаков содержание и соотношение хлорофиллов зависит от pH корневой среды. Наличие данных изменений позволяет предположить, что эти факторы оказывают серьезное влияние на фотосинтетический аппарат *Triticum aestivum* и *Secale cereale*.

#### Библиографический список

1. Астахова Н.В., Демин И.Н., Нарайкина Н.В., Трунова Т.И. Влияние гена desA 12-ацил-липидной деструктазы на структуру хлоропластов и устойчивость к гипотермии растений картофеля // Физиология растений. 2011. Т.58, №1. С.21-27.

2. Borhannuddin B., Mirza H., Jubayer A. M., Md. Shahadat Hossain, Bhuiyan T. F. and Masayuki F. Unraveling Morphophysiological and Biochemical Responses of *Triticum aestivum* L. to Extreme pH: Coordinated Actions of Antioxidant Defense and Glyoxalase Systems // Plants. 2019.

3. Дымова О.В., Головкин Т.К. Состояние пигментного аппарата растений живучки ползучей в связи с адаптацией к световым условиям произрастания // Физиология растений. 2007. Т. 54. № 1. С. 47-53.

4. Еремченко О.З., Кусякина М.Г., Лузина Е.В. Содержание пигментов в растениях *Lepidium sativum* в условиях хлоридно-натриевого засоления и ощелачивания // Физиология растений. 2014. Вып 1. С.30-35.

## ВЛИЯНИЕ КОРОДРЕВЕСНЫХ ОТХОДОВ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРИДОРОЖНЫХ ТЕХНОГЕННЫХ ПОВЕРХНОСТНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ

Горлова А.Д.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: доцент, к.б.н., Кайгородов Р.В.**

В результате многочисленных видов антропогенной деятельности, в том числе при строительстве и эксплуатации автомобильных дорог, возникают различные техногенные поверхностные образования (далее ТПО). В какой мере ТПО могут осуществлять функции почв в придорожных экосистемах можно судить по их биологической активности, поэтому,

ведётся разработка методов диагностики и способов увеличения биологической активности ТПО для увеличения экологической устойчивости ТПО [1].

В то же время, большие объемы кородревесных отходов (далее КДО) целлюлозно-бумажной промышленности, их негативное воздействие на объекты окружающей среды (грунтовые воды, почвенный покров), опасность возгорания требуют разработки способов их безопасной утилизации, переработки и рационального использования [2].

Одним из основных направлений использования КДО, как источников органического вещества, является их применение в качестве почво-грунтов или в производстве органических и органоминеральных удобрений [3].

Целью нашей работы является изучение некоторых показателей биологической активности придорожных ТПО до и после внесения в них КДО.

Важнейшими характеристиками биологической активности являются ростовые показатели и биомассам показатели тест-культур, а также активность фермента каталазы в ТПО.

Объектами исследований послужили ТПО, относящиеся к классам литостратов и органолитостратов придорожных пространств, отобранных у проезжих частей (5-10 м от дорожного полотна) вне городских территорий в пяти различных районах Тюменской области. В эксперименте по внесению КДО, в исходные грунты вносили 15% кородревесные отходы от массы ТПО.

Биологическую активность грунтов оценивали по состоянию проростков тест-культуры согласно методу фитотестирования на проростках кресс-салата (*Lepidium sativum* L) [4]. Активность фермента каталазы анализировали газометрическим способом [5].

Как видно из таблицы 1, внесение КДО в ТПО в целом положительно повлияло на ростовые показатели у тест-культур, особенно высокий показатель увеличения роста кресс-салата был у участка № 2.

Таблица 1

Ростовые показатели тест-культур (см) на ТПО до и после внесения КДО

№ участка	До внесения КДО	После внесения КДО	Относительно роста до внесения КДО, %
1	1,65	2,596	157
2	1,37	2,804	204
3	2,42	2,456	101
4	2,79	2,4	86
7	1,95	2,616	134

По результатам, приведенным в таблице 2, видно такую же положительную динамику после внесения КДО, особенно высокие показатели у участков № 2 и № 7.

Таблица 2

Биомасса тест-культур (г) на ТПО до и после внесения КДО

№ участка	До внесения КДО	После внесения КДО	Относительно биомассы до внесения КДО, %
1	0,0084	0,012	143
2	0,0078	0,017	218
3	0,0131	0,012	92
4	0,0158	0,011	70
7	0,0102	0,022	216

Внесение КДО на участке № 4 вызвало негативное влияние на рост и биомассу тест-культуры, относящемуся к классу органолитостратов с более высокой биологической активностью по сравнению с другими участками.

Как показали результаты, внесение КДО в исследуемые ТПО вызвало снижение активности каталазы (см. табл. 3) на всех участках. КДО обладают кислой реакцией, что, вероятно, и привело к уменьшению активности каталазы, имеющей оптимум активности в области pH 7,3 [5].

Таблица 3

Активность каталазы (выделение O<sub>2</sub> мл/г·мин) до и после внесения КДО

№ участка	До внесения КДО	После внесения КДО	Относительно активности каталазы до внесения КДО, %
1	1,52	0,90	59,2
2	2,31	1,32	57,1
3	2,48	0,92	37,1
4	1,15	1,04	90,4
7	1,41	1,08	76,6

Таким образом, внесение КДО в количестве 15% в ТПО придорожных пространств на большинстве исследованных участков вызвало повышение общей биологической активности, что было установлено по увеличению роста и биомассы тест-культуры. Исключение составил участок с ТПО из класса органолитостратов. При этом активность фермента каталаза снижалась на всех участках.

#### Библиографический список

1. Кайгородов Р.В., Попова Е.И.. Биологическая активность техногенных поверхностных образований транспортной зоны вне урбанизированных территорий Тюменской области // Успехи современного естествознания. 2018. № 12 (часть 1) С. 136-142
2. Кайгородов Р.В., Горлова А.Д., Попова Е.И.. Агрехимические свойства кородревесных отходов и их влияние на ростовые процессы сельскохозяйственных растений // История и методология физиолого-биохимических и почвенных исследований. Пермь, 2017. С. 136–137
3. Коротаев В.Н., Жилинская Я.А., Ширинкина Е.С. Технологические подходы к использованию продуктов механобиологической переработки отходов для рекультивации нарушенных земель на урбанизированных территориях // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. 2010. № 6. С. 9–14.
4. Еремченко О.З., Митракова Н.В. Способ оценки биологической активности и токсичности почв и техногенных почвогрунтов: патент РФ № 2620555. 2017.
5. Звягинцев Д. Г. Биологическая активность почв и шкалы для оценки некоторых её показателей // Почвоведение. 1978. № 6. С. 48 – 54.

## СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ИСТОЧНИКАХ ПРОПОЛИСА УМЕРЕННОЙ ПРИРОДНОЙ ЗОНЫ

Карташова И.Н.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: доцент, к.б.н. Кайгородов Р.В.**

Прополис является продуктом переработки пчелами смолистых выделений растений. Основными компонентами прополиса выступают флавоноиды и другие классы фенольных

соединений. Регуляция метаболизма фенольных соединений у растений основана на экспрессии определенных генов и активации или ингибировании соответствующих ферментов [1]. Состав фенольных соединений в смолистых выделениях существенно варьирует в зависимости от видовых особенностей, природно-климатических условий произрастания и эколого-физиологических потребностей растений. В разных природных зонах источниками прополиса служат различные виды растений. В умеренной природной зоне пчелы собирают прополис с деревьев родов береза (*Betula* L.) и тополь (*Populus* L.) [2].

Целью работы было изучение содержания фенольных соединений в разных органах растительных источников прополиса умеренной природной зоны.

Объектами исследования послужили образцы пазушных почек, листовых пластинок и черешков основных растительных источников прополиса в умеренной зоне: тополь черный (*Populus nigra* L.), тополь дрожащий (осина) (*Populus tremula* L.) и береза бородавчатая (*Betula verrucosa* Roth). Образцы отбирались в разных районах Пермского края. Всего было проанализировано по десять образцов каждого из исследуемых органов растений.

В растительных образцах суммарного содержания фенольных соединений в эквиваленте галловой кислоты определяли по модифицированному методу Фолина-Чокальтеу [3]. Суммарное содержание флавоноидов анализировали в эквиваленте кверцетина с 5%-м спиртовым раствором хлорида алюминия (III) [3].

Содержание индивидуальных фенольных соединений (бензойная и кофейная кислоты) определяли методом обращено-фазной высоко эффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовой детекцией (ОФ ВЭЖХ УФ) на приборе Dionex, Ultimate 3000.

Статистическую обработку проводили в программе Past 3.0. Достоверность различий между вариантами (видами и органами растений) оценивали по величине наименьшей существенной разности (НСР).

Как видно из таблицы 1, в пазушных почках разных растительных источников прополиса сумма фенольных соединений и флавоноидов достоверно отличается. Максимальное содержание фенольных соединений было обнаружено в почках тополя черного (*Populus nigra* L.), минимальное – у тополя дрожащего (осины) (*Populus tremula* L.). Аналогичные результаты были получены по содержанию флавоноидов в пазушных почках изученных источников прополиса.

Таблица 1

Суммарное содержание фенольных соединений и флавоноидов в почках растительных источников прополиса, (%)

Вид растения	Сумма фенольных соединений	Сумма флавонолов
Тополь черный ( <i>Populus nigra</i> L.)	13,12±0,82	3,22±0,07
Береза бородавчатая ( <i>Betula verrucosa</i> Roth)	8,01±0,91	0,91±0,16
Тополь дрожащий (осина) ( <i>Populus tremula</i> L.)	2,44±0,24	0,11±0,04
НСР	2,11	0,34

Результаты исследований содержания некоторых индивидуальных фенольных соединений в разных вегетативных органах источников прополиса представлены в таблице 2.



Таблица 2

Сумма индивидуальных фенольных соединений в почках, листовых пластинках и черешках растительных источников прополиса, (мг/100 г)

Орган растения	Фенольные кислоты	Тополь черный	Тополь дрожащий	Береза бородавчатая
Пазушные почки	Бензойная	22,5*	58,2*	н.о.
	Кофейная	579±103	37,2±14,2	15,12±2,04
Листовые пластинки	Бензойная	16,7*	н.о.	н.о.
	Кофейная	19,8±1,9	19,8*	н.о.
Черешки	Бензойная	45,3*	н.о.	н.о.
	Кофейная	18,3±4,1	8,7*	9,9*

Примечания: \* - единичные образцы среднее значение, н.о. – ниже предела обнаружения метода

По содержанию фенольных кислот в растительных источниках прополиса выявлены некоторые видовые особенности и установлена дифференциация по органам растений.

Бензойная кислота обнаружена в единичных образцах всех исследуемых органов тополя черного, с наибольшим содержанием в черешках. У тополя дрожащего бензойная кислота обнаружена лишь в единичных образцах почек. В органах березы бородавчатой содержание бензойной кислоты было ниже 1,0 мг/100 г (табл. 2).

Кофейная кислота обнаружена в пазушных почках всех исследуемых видов растений. Максимальное содержание кофейной кислоты установлено в почках тополя чёрного. В листовых пластинках кофейная кислота содержалась во всех образцах тополя черного, в единичных образцах тополя дрожащего и отсутствовала у березы бородавчатой. В черешках тополя черного кофейная кислота присутствовала во всех образцах, у тополя дрожащего и березы бородавчатой – в единичных пробах.

Таким образом, содержание и состав фенольных соединений в пределах одной природной зоны существенно варьирует в зависимости от биохимических особенностей его растительных источников и имеет видовые различия в дифференциации по отдельным вегетативным органам (почки, листья, черешки). В умеренной природной зоне максимальное содержание суммы фенольных соединений и их отдельных классов флавоноидов, фенольных кислот (на примере бензойной) и гидроксикоричных кислот (на примере кофейной) установлено в тополе черном.

#### Библиографический список

1. Щербаков А. В., Чистякова М. В., Рахманкулова З. Ф., Усманов И. Ю. Физиологические аспекты регуляции пластичности накопления флавоноидов на Южном Урале // Вестник Башкирского университета. 2012. Т. 17. №2. С. 931 – 941.
2. Поправко С.А., Соколов М.В. Растительные источники прополиса // Пчеловодство. 1980. №2. С. 28 – 29
3. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. 2004. 240 с.

# ИЗМЕНЕНИЕ ВЫСОТЫ И МАССЫ РАСТЕНИЙ РЖИ ОЗИМОЙ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ И ОЩЕЛАЧИВАНИИ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОГО ОПЫТА

Колбик А.Е.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Научный руководитель: д.б.н., профессор Еремченко О.З.

Засоленность – один из основных признаков неблагоприятного экологического состояния земель. По классическим представлениям отрицательное воздействие засоления на биологические объекты обусловлено щелочной реакцией среды, осмотическим и токсическим действием легкорастворимых солей, неблагоприятными водно-физическими свойствами почв (ухудшение водопроницаемости за счет повышения содержания физической глины, увеличение минерализации органического вещества). Антропогенное воздействие на почвы часто сопровождается засолением и ощелачиванием [2,3]; в Пермском крае эти явления связаны с производством солей [1].

## Методы исследования:

В модельном эксперименте изучили реакцию ржи озимой на отдельное и комбинированное воздействие засоления NaCl и разного pH-уровня корневой среды. Пробы из элювиального горизонта дерново-подзолистой почвы с pH=4,9 нейтрализовали известью (расчетной дозой по величине гидролитической кислотности) до pH=7,0. NaCl внесли в количестве 0,3 % и 0,5 % от веса сухой почвы. Для подщелачивания почвы до 8,2 pH использовали Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. В качестве контроля использовали известкованную почву с pH=7,0.

Данные по всхожести, высоте и массе растений обрабатывали статистическими методами.

## Результаты и их обсуждение:

Самую высокую долю проросших семян ржи отметили на известкованной нейтральной почве, где она составила 92% (рис.1.). Одинаковой была всхожесть семян на подщелаченной и кислой почвах - 82%. Самыми плохими оказались результаты по всхожести семян на засоленных вариантах. В варианте комбинирования кислой реакции среды и засоления, наблюдалось самое низкое произрастание: 0,3% NaCl – 50%, а при 0,5% NaCl – 22%.

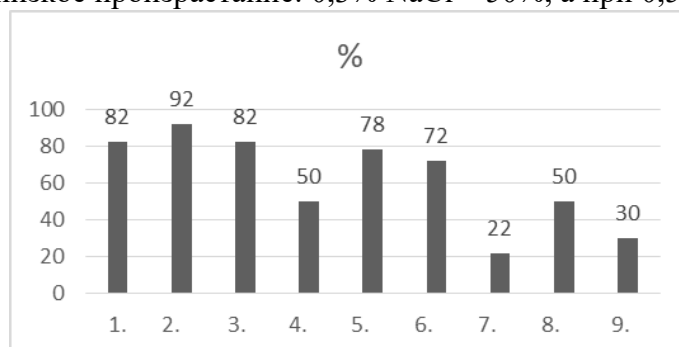


Рис.1. Всхожесть семян ржи озимой при отдельном и комбинированном воздействии засоления и pH-уровня корневой среды; здесь и на рисунке 2:

1 – дерново-подзолистая почва (pH=4,9), 2 – дерново-подзолистая известкованная почва (pH=7,0), 3 – дерново-подзолистая подщелаченная почва (pH=8,2), 4 – дерново-подзолистая почва (pH=4,9) + NaCl 0,3%, 5 – дерново-подзолистая известкованная почва + NaCl 0,3%, 6 – дерново-подзолистая подщелаченная почва + NaCl 0,3%, 7 - дерново-подзолистая почва + NaCl 0,5%, 8 – дерново-подзолистая известкованная почва + NaCl 0,5%, 9 – дерново-подзолистая подщелаченная почва + NaCl 0,5%

В модельном эксперименте с засолением и ощелачиванием дерново-подзолистой почвы установлено, что на всех вариантах опыта высота и масса ржи была ниже по сравнению с контролем. На пробах из элювиального горизонта снижение высоты и массы кресс-салата обусловлено в значительной степени кислой средой (рис. 2) На фоне подщелачивания почвы показатели массы растений были выше, чем при кислой среде, хотя по высоте не было значимых различий. Худшими для растений были засоленные варианты почв при любой реакции почвенной среды. Растения, выращенные при комбинированном воздействии кислой реакции среды и засоления, характеризовались наименьшей высотой и массой, особенно при внесении 0,5% NaCl.

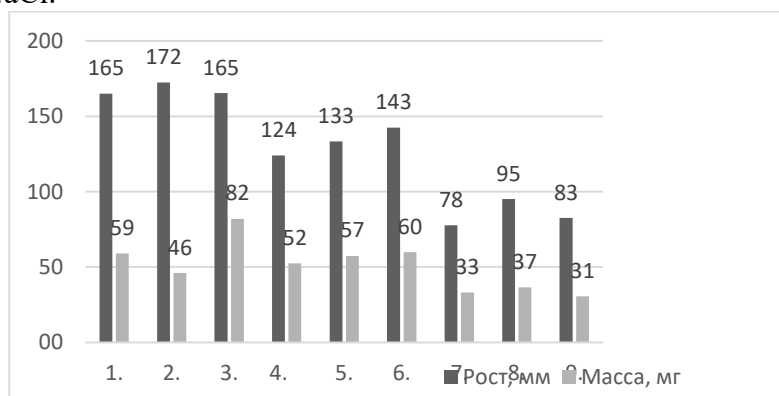


Рис.2. Высота и масса ржи озимая при отдельном и комбинированном воздействии засоления и рН-уровня корневой среды

Таким образом, проведенные модельные опыты показали, что поступление солей NaCl в количестве 0,3-0,5% в зональные дерново-подзолистые почвы негативно влияет на прорастание семян, рост и развитие районированной культуры – ржи озимой. Токсичность солей особенно усилилась при сохранении кислой реакции почвенной среды.

#### Библиографический список

1. Еремченко О.З., Митракова Н.В., Шестаков И.Е. Природно-техногенная организация почвенного покрова территории воздействия солеотвалов и шламохранилищ в Соликамско-Березниковском экономическом районе // Вестник Пермского университета. Биология. 2017. Вып. 3. С. 311-320.
2. Редли М., Панкова Е.И. Результаты современных исследований засоленных почв в Европе // Почвоведение. 2004. № 12. С. 1473-1485.
3. Хулиш П., Пиндрал С., Кобиерски М., Чаржински П. Техногенные слои в органогенных почвах как результат воздействия отходов содовой промышленности // Почвоведение. 2018. № 10. С. 1192–1201.
- 4.

### СВОЙСТВА ПОЧВ НА КАРБОНАТНЫХ И СУЛЬФАТНЫХ ПОРОДАХ ООПТ «ЛУНЕЖСКИЕ ГОРЫ»

Липин И.Н.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н. Ушаков В.Ю.**

Усиление антропогенной нагрузки на природу нарушает свойства и функции почв, угрожает сохранению почвенно-генетического разнообразия. На международном уровне существует Европейская тематическая стратегия сохранения почв, принятая в 2006 году странами ЕС. Главная цель этой стратегии - защита и рациональное использование почв,

основывается на следующих руководящих принципах: предотвращение дальнейшей деградации почвы и сохранение ее функций; восстановление нарушенных почв до уровня нормальных функциональных возможностей почвы адекватных, по крайней мере, текущему или намечаемому характеру использования [1].

В реализации особой охраны почв одним из основных подходов считается выявление редких почв, представляющих повышенную научную и/или экосистемную значимость. На фоне однородных биоклиматических условий фактор «редкости» почв связан, как правило, с редкими для региона почвообразующими породами. Литологический фактор почвообразования по сравнению с зональными факторами изучен недостаточно [2].

В Пермском крае работы по описанию редких и исчезающих почв проводились на территории ООПТ «Черняевский лес» в 2016. Данная работа является продолжением этих исследований.

На территории ландшафтного памятника природы «Лунежские горы», в верхней части коренного склона долины реки Камы под елово-пихтовым перелеском с разреженным травяным покровом (борец высокий, копытень европейский, кислица обыкновенная, сныть обыкновенная, звездчатка жестколистная, костяника, василистник, хвощ) сформировались темногумусовые почвы, которые относятся к отделу «органно-аккумулятивные почвы». Почвообразующей породой служит элювий пермских пород.

Темногумусовая почва на элювии пермских слоистых пород имеет формулу профиля: AUca,cs - Cca,cs. Темногумусовый горизонт имеет мощность 18 см, серовато-тёмнобурый, зернистый, тяжелосуглинистый, встречаются включения рыхлых и плотных обломков карбонатных и гипсовых пород. Переходный по гумусу горизонт бурого цвета, крупнозернистый, глинистый, липкий, включает ноздреватые обломки гипсовых и карбонатных пород. Он очень постепенно переходит в почвообразующую породу, в которой спрессованные пестрые глины (желтоватые, бурые, голубовато-серые, сизые, рыжие, шоколадные, малиновые, розоватые тона) переслаиваются гипсовым и карбонатным материалом. У почвы нейтральная и слабощелочная реакция. В слое 2-12 см гумусового горизонта содержится около 8 % гумуса, на глубине 20-30 см его количество становится менее 2 %. (табл. 1)

Таблица 1

Свойства темногумусовой почвы на элювии пермских слоистых (карбонатно-гипсовых) пород

Количество разрезов	Горизонт	Глубина, см	Гумус, %	pH <sub>вод</sub>	pH <sub>сол</sub>	Сумма оснований, мг-экв/100 г	Гидролитическая кислотность, мг-экв/100 г
1	AUca,cs	2-12	7,94	7,9	6,9	49,1	1,9
1	AUCca,cs	20-30	1,76	7,7	6,7	40,3	2,8
1	Cca,cs	35-45	0,73	8,2	7,4	49,5	0,8

Темногумусовые остаточно-карбонатные почвы на элювии пермских карбонатных пород имели формулу профиля: AU-Cca (табл. 2). Данные почвы были сформированы под кронами пихты, ели, подростами рябины и липы, а также травяной растительности (сныть, копытень, гравилат, манжетка) и мхов. Почвы имеют темногумусовый горизонт мощностью 20 см, бурый, крупно-зернистый, влажный глинистый, с обилием корней. Кислотность почв может быть от слабощелочной до сильнокислой в зависимости от горизонтов. Содержание гумуса снижается во мере залегания горизонтов и составляет до 11% в темногумусовом горизонте, до 7% в переходном и менее 3% в последующих.

Таблица 2

## Свойства темногумусовых почв на элювии пермских карбонатных пород

Количество разрезов	Горизонт	Глубина, см	Гумус, %	pH <sub>вод</sub>	pH <sub>сол</sub>	Сумма оснований, мг-экв/100 г	Гидролитическая кислотность, мг-экв/100 г
2	AU	0-9	10,45	6,56	6,37	38,14	3,02
2	AU	10-20	6,42	6,39	5,91	37,42	3,54
2	AUC	20-35	2,91	6,72	5,68	34,05	2,49

При дальнейшем изучении верхней части коренного склона р. Камы впервые в регионе были обнаружены и описаны почвы на плотных гипсах – сухоторфяно-литоземы. В своем профиле имеют горизонт TJ, характеризующийся остатками мезофильных растений разной степени разложения, не превышающей 50%, при содержании органического вещества >35% от массы горизонта[4]. Эти почвы согласно классификации почв относятся к отделу «литоземы», который объединяет почвы, профиль которых состоит из органогенного или гумусового горизонта различной природы, сформированного в мелкоземистой или щебнисто-мелкоземистой толще. На глубине не более 30 см залегает плотная порода любого состава и разного генезиса. Выявленные в ООПТ почвы сформированы под смешанным лесом (ель, пихта, береза, сосна, рябина), а также малина, шиповник, папоротники, сныть, кислица, мхи. Почвы имеют следующую формулу профиля: TJ-C.

Почвы состоят из двух горизонтов сухоторфяного горизонта и рыхлой почвообразующей (гипсовой или карбонатно-гипсовой) породы. Описаны также почвы с погребенными сухоторфяными горизонтами. Сухоторфяный горизонт имеет потерю от прокаливания почти 43%. Реакция почвенной среды нейтральная в верхнем горизонте, а в рыхлой породе - слабощелочная. Содержание карбонатов в почвенном профиле варьировало в широких пределах. В отдельных разрезах сухоторфяной горизонт содержал лишь «следы» карбонатов, в других их содержание достигало 18% от веса почвы. Минеральный горизонт мог состоять практически только из гипса, либо содержать до 23% карбонатных солей.

Таблица 3

## Свойства сухоторфяно-литоземов на гипсах

Количество разрезов	Горизонт	Потеря от прокаливания, %	pH <sub>вод</sub>	pH <sub>сол</sub>	CO <sub>2</sub> карбонатов, %
5	TJ	42,8±5,26	6,97±0,72	6,60±0,74	6,87±3,36
5	C	-	7,63±0,67	7,69±0,56	5,08±4,18

Таким образом, проведенные исследования дают представление о структуре почвенного покрова коренных склонов р. Камы, где почвы сформировались на выходах пермских пород. Качественные отличия в строении профиля и свойств исследованных почв обусловлены литогенным фактором – влиянием почвообразующих пород разного химизма.

**Библиографический список**

1. Семиколенных А.А. Европейская тематическая стратегия сохранения почв (обзор документов) // Почвоведение. 2008. № 12. С. 1524–1526.
2. Гагарина Э.И. Литологический фактор почвообразования (на примере Северо-Запада Русской равнины). СПб: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2004. 260 с.
3. Классификация и диагностика почв России. Смоленск: Ойкумена, 2004. 341 с.

# ФОТОСИНТЕЗ ЛИСТЬЕВ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Моисеева А.А.<sup>1</sup>, Кармацких А.А.<sup>2</sup>, Моисеева К.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Тюменский государственный университет, г. Тюмень, Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО "Государственный аграрный университет Северного Зауралья", г. Тюмень, Россия

Основным фактором, определяющим формирование фотосинтетической мощности посевов полевых культур, является оптимальная обеспеченность растений доступными формами питательных элементов в течение вегетации растений. Доступность почвенных минеральных элементов определяет рост и развитие растений через их влияние на фотосинтез и распределение ассимилянтов, активность ферментов, содержание пигментов, транспорт ионов и т.д. Поэтому для адаптации растений к условиям минерального статуса почвы необходима интеграция различных процессов, находящихся под контролем множества факторов [1].

В сравнении с другими зерновыми культурами озимая пшеница более требовательна к удобрениям в связи со слабо развитой корневой системой и способностью поглощать питательные вещества из почвы. Имея очень длинный вегетационный период (340 и более суток), озимая пшеница усваивает из почвы основную массу питательных веществ в течение очень короткого периода времени – от фазы выхода в трубку до молочной спелости зерна. За этот период времени растение усваивает 78-92% азота, 75-88% фосфора и 85-88% калия [2].

Именно поэтому определение показателей фотосинтетической деятельности растений в посевах озимой пшеницы является важнейшим условием обоснования хода продукционного процесса в разных вариантах технологии возделывания.

Большую актуальность приобретают исследования, направленные на изучение влияния азотных удобрений на структурную организацию, активность и эффективность работы фотосинтетического аппарата. Для разработки оптимальных доз удобрений под озимую пшеницу на опытном поле ГАУ Северного Зауралья был заложен полевой опыт [3].

Цель исследования – изучить эффективность применения медленнодействующих азотных удобрений, полученных по "Si" технологии под озимую пшеницу в условиях северной лесостепи Северного Зауралья.

Варианты опыта: Вариант № 1 – контроль (без внесения удобрений); Вариант № 2 – карбамид (60 кг/га д.в.); Вариант № 3 – карбамид капсулированный по "Si" технологии (60 кг/га д.в.); Вариант № 4 – карбамид капсулированный по "Si" технологии (30 кг/га д.в.); Вариант № 5 – карбамид капсулированный по "Si" технологии (60 кг/га д.в.) + KCl (30 кг/га д.в.); Вариант № 6 – карбамид капсулированный по "Si" технологии (60 кг/га д.в.) + KCl (30 кг/га д.в.) + P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (40 кг/га д.в.).

В нашем университете разработана новая технология «Si» (покрытие гранул азотных удобрений труднорастворимой в воде силикатной композицией с ингибитором уреазы).

Расположение делянок в опыте систематическое, повторность 4-кратная. Общая площадь делянки – 30 м<sup>2</sup>. Объектом исследования являлся сорт озимой пшеницы – Новосибирская 32. Почвенный покров участка опытного поля – чернозем выщелоченный. Все удобрения вносили локально совместно с посевом. Озимую пшеницу возделывали по технологии, рекомендованной для северной лесостепи Тюменской области [4].

Погодные условия в годы проведения исследований были различны: зимостойкость растений отмечена в 4,8-5,0 баллов в первый и третий год опыта, на второй год опыта зимостойкость отмечена 2 балла.

Установлено влияние минеральных удобрений на увеличение площади листовой поверхности озимой пшеницы (табл. 1).

Таблица 1

Влияние минеральных удобрений на формирование площади листьев и продуктивность озимой пшеницы, 2014-2017 гг.

Вариант	Площадь листьев, тыс.м <sup>2</sup> /га			Урожайность, т/га		
	2014-2015 гг.	2016-2017 гг.	ср.	2014-2015 гг.	2016-2017 гг.	ср.
Вариант № 1	36,90	41,44	39,17	2,20	3,87	3,04
Вариант № 2	37,20	38,52	37,86	2,37	3,74	3,06
Вариант № 3	39,60	43,09	41,35	2,57	4,14	3,36
Вариант № 4	40,21	42,05	41,13	2,73	4,09	3,41
Вариант № 5	38,54	44,73	41,64	2,65	4,06	3,36
Вариант № 6	39,10	46,17	42,64	2,51	4,58	3,55

Фотосинтетическая деятельность растений – основной процесс, определяющий продуктивность растений. Минеральные удобрения оказывали положительное влияние на формирование листовой поверхности. За 2014-2017 гг. сорт Новосибирская 32 сформировал наибольшую площадь листьев в фазу колошения, при использовании 6 варианта и составила 46,17 тыс. м<sup>2</sup>/га, что на 4,73 тыс. м<sup>2</sup>/га больше по сравнению с контролем.

Нами отмечено, что в период колошения на 0,18-4,73%, по отношению к контролю (без удобрений) и другими сравниваемыми вариантами усиливалось развитие листового аппарата озимой пшеницы. В варианте №1 – отмечено снижение площади листьев на 2,92 тыс. м<sup>2</sup>/га.

В среднем за годы исследований наибольший урожай зерна был получен в шестом варианте карбамид капсулированный по "Si" технологии (N (60 кг/га д.в.) + KCl (30 кг/га д.в.) + P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (40 кг/га д.в.)) и составил 3,55 т/га, что выше контрольного варианта на 0,51 т/га, это составляет 16,81% прибавки к урожаю. Урожайность в третьем, четвертом и пятом вариантах была близкой по величине и составила соответственно 3,36-3,41 т/га, что выше на 0,27-0,32 т/га контрольного варианта – 3,04 т/га.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что применение минеральных удобрений под озимую пшеницу обеспечивает формирование оптимальной площади поверхности листьев озимой пшеницы. Увеличивается активность и продолжительность работы ассимиляционного аппарата.

#### Библиографический список

1. Высоцкая Л.Б. Роль гормональных сигналов в регуляции роста побега и корня при дефиците ионов в питательном растворе / Л.Б. Высоцкая // Современная физиология растений: от молекул до экосистем: Мат. Межд. конф. – Ч. 1. – Сыктывкар: Изд-во Коми НЦ УрО РАН, 2007. – С. 263-264.
2. Агеев В.В. Системы удобрения в севооборотах Юга России, / В.В. Агеев, А.И. Подколзин // 2001. – С. 349.
3. Кармацких А.А., Моисеева К.В., Моисеева А.А. Влияние азотных удобрений на урожайность зерна озимой пшеницы в условиях Северного Зауралья / А.А. Кармацких, К.В. Моисеева, А.А. Моисеева // Развитие научной, творческой и инновационной деятельности молодежи материалы VII Всероссийской научно-практической заочной конференции молодых ученых. (10 ноября 2015 г.) Курган, 2015. – С. 42-43.
4. Moiseeva K. Influence of Mineral Fertilizers on Winter Wheat Yield [Влияние минеральных удобрений на урожайность озимой пшеницы] / Ksenia Moiseeva, Alexander Karmatskiy, Anastasia Moiseeva // International scientific and practical conference "AgroSMART - Smart solutions for agriculture" (AgroSMART 2018). 2018. pp. 499-503. DOI: <https://doi.org/10.2991/agrosmart-18.2018.94>

# СВОЙСТВА ПОЧВ, НАХОДЯЩИХСЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЛЕННЫХ ВОД, ИЗЛИВАЮЩИХСЯ ИЗ РАССОЛОПОДЪЕМНЫХ СКВАЖИН

Пахоруков И.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., профессор Еремченко О.З.**

В районах развития галогенных формаций часто ведется добыча каменной соли. На территории Верхнекамского калийно-магниевое месторождения солей добыча рассолов велась с XV по XX вв. На территории месторождения в период с 1430 по 1970 г закладывалось множество рассолоподъемных скважин. После постройки Камского водохранилища большинство из них было затоплено. В настоящее время, на бывших местах добычи рассолов, обнаруживаются старые рассолоподъемные скважины, которые являются одной из причин засоления природных, в основном аквальных ландшафтов [1].

В пойме р. Усолки из двух старых рассолоподъемных скважин изливаются соленые ручьи, по берегам которых произрастают солеросы.

Установлено, что минерализация вод, изливающихся из рассолоподъемных скважин, составляла 32,3 г/л (таблица), химизм засоления кальциево-натриевый, хлоридный. При их участии произошло засоление аллювиальных почв. В соответствии с Классификацией и диагностикой почв России [2] описаны следующие почвы: аллювиальная гумусовая глееватая хлоридно-сульфатная кальциево-натриевая тяжелосуглинистая почва, аллювиальная гумусовая глееватая сульфатно-хлоридная натриевая тяжелосуглинистая солончаковая почва, аллювиальная гумусовая глееватая сульфатная натриево-кальциевая суглинистая солончаковая почва, солончак вторичный сульфатно-хлоридный натриевый по аллювиальной гумусовой глеевой почве. Ниже приводим описание ионно-солевого состава и характеристику состава обменных оснований.

Таблица

Содержание водорастворимых ионов в водах, изливающихся из рассолоподъемных скважин,

№	рН	∑ солей, г/л	ммоль(экв)						
			Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
1	7,8	33,8	58,6	14,6	480,0	0,3	468,8	79,2	16,7
2	7,8	30,1	56,4	14,4	420,9	0,3	410,4	71,0	19,2

Содержание токсичных солей (в слое 0-20 см) в аллювиальной гумусовой глееватой хлоридно-сульфатной кальциево-натриевой тяжелосуглинистой почве достигало 0,45%, химизм засоления кальциево-натриевый, хлоридно-сульфатный, реакция почвенной среды варьировала от слабощелочной (рН<sub>вод</sub> = 7,7) до щелочной (рН<sub>вод</sub> = 8,2). Содержание гипса в профиле варьировало в диапазоне от 0,99 до 2,92%, содержание карбонатов – от 1,19 до 2,57%. В составе обменных оснований преобладают кальций (46,1% от ЕКО) и натрий (43,32% от ЕКО). По содержанию обменного натрия данная почва характеризуется как многонатриевая.

Содержание токсичных солей (в слое 0-20 см) в аллювиальной гумусовой глееватой сульфатно-хлоридной натриевой тяжелосуглинистой солончаковой почве достигало 0,31%, химизм засоления натриевый, сульфатно-хлоридный, реакция почвенной среды варьировала от слабощелочной (рН<sub>вод</sub> = 7,2) до щелочной (рН<sub>вод</sub> = 8,1). Содержание гипса в профиле варьировало в диапазоне от 1,24 до 2,67%, содержание карбонатов – от 0,79 до 1,39%. В составе обменных оснований преобладают кальций (49% от ЕКО) и натрий (41,3% от ЕКО). По содержанию обменного натрия данная почва характеризуется как многонатриевая.



Содержание токсичных солей (в слое 0-20 см) в аллювиальной гумусовой глееватой сульфатной натриево-кальциевой суглинистой солончаковой почве достигало 0,5%, химизм засоления натриево-кальциевый, сульфатный, реакция почвенной среды варьировала от нейтральной ( $pH_{\text{вод}} = 6,8$ ) до слабощелочной ( $pH_{\text{вод}} = 7,7$ ). Содержание гипса в профиле варьировало в диапазоне от 1,81 до 11,09%, содержание карбонатов – от 0,89 до 1,39%. В составе обменных оснований преобладают кальций (49,4% от ЕКО) и натрия (41,6% от ЕКО). По содержанию обменного натрия данная почва характеризуется как многонатриевая.

Содержание токсичных водорастворимых солей (в слое 0-20 см) в солончаке вторичном сульфатно-хлоридном натриевом по аллювиальной гумусовой глеевой почве достигало 1,06%. Реакция почвенной среды варьировала от слабощелочной ( $pH_{\text{вод}} = 7,5$ ) до щелочной ( $pH_{\text{вод}} = 8,2$ ). Содержание гипса варьировало в диапазоне от 1,14 до 3,47%, а содержание карбонатов – от 1,62 до 2,9%. В составе обменных оснований преобладали кальций (51,5% от ЕКО) и натрия (36,3% от ЕКО) с заметной долей магния (10,2% от ЕКО). По содержанию обменного натрия данный солончак можно охарактеризовать как средненатриевый.

Таким образом, предположительно за несколько столетий в пойме реки под влиянием соленых вод, изливающихся из старых рассолоподъемных скважин, аллювиальные гумусовые глееватые почвы трансформировались в солончаковые почвы и вторичные солончаки. В водных вытяжках из почв широко представлены ионы натрия, кальция, хлориды и сульфаты, появляются новообразования гипса. Эта трансформация солей, по-видимому, происходит при участии современных обменных процессов; кальций может быть вытеснен из почвенно-поглощающего комплекса и образует гипс (с сульфат-ионами) и карбонаты. По доле обменного натрия почвы являются много- и средненатриевыми, одновременно высокую долю в ППК занимает обменный кальций.

#### **Библиографический список**

1. Хайрулина Е.А., Новоселова Л.В., Порошина Н.В. Природные и антропогенные источники водорастворимых солей на территории верхнекамского месторождения калийно-магниевого солей // Географический вестник. Выпуск 1(40). 2017. С. 93-99.
2. Классификация и диагностика почв России. Смоленск: Ойкумена, 2004. С. 341.

## **ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ *ZINNA ELEGANS* НА ДЛИТЕЛЬНЫЙ СОЛЕВОЙ СТРЕСС**

Плотников Д.С., Тугбаева А.С., Ермошин А.А.

*Институт естественных наук и математики ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого  
Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия*

**Научный руководитель: доцент, к.б.н. Киселева И.С.**

Абиотические факторы, в том числе засоление почвы, оказывают сильное воздействие на рост и продуктивность растений. С одной стороны, влияние солей можно рассматривать как фактор, приводящий к осмотическому стрессу. С другой стороны, хлоридное или сульфатное засоление оказывает токсический эффект из-за накопления натрия в клетках. Пороговый уровень для большинства растений – 40 мМ/л NaCl [1]. Солевой стресс влияет на биохимические и физиологические процессы, ростовые параметры, развитие в зависимости от устойчивости растений. Биохимические изменения, такие как уровень пероксида водорода или супероксид-радикала активируют систему антиоксидантной защиты. Активность антиоксидантных ферментов может быть использована в качестве маркера для оценки устойчивости растений к солевому стрессу.

Цель работы – исследовать рост и реакции ферментных систем антиоксидантной защиты растений *Zinnia elegans* при длительном солевом стрессе.

Объект исследования – *Zinnia elegans* Jacq., однолетнее декоративное травянистое растение семейства *Asteraceae*. Растения выращивали в течение 35 дней в горшках со смесью перлит:вермикулит (1:1) на среде Мурасиге и Скуга, разбавленной в 4 раза, в опыте вносили 25 мМ/л NaCl. Фотопериод 16/8 часов. Измеряли высоту растений на 7, 14, 21, 28 и 35 день. Выборка составила 30 растений для каждой группы. Активность ферментов (супероксиддисмутаза – СОД, гваяколовая пероксидаза – ГП, бензидиновая пероксидаза – БП, аскорбат-пероксидаза – АП), содержание белка, концентрацию пероксида водорода определяли в тканях корня и стебля спектрофотометрическими методами [2] в трех биологических и трех аналитических повторностях. Статистическую обработку данных проводили в программе STATISTICA 10 с применением t-критерия Стьюдента для нормально распределенных генеральных совокупностей и U- критерия Манна-Уитни.

В предварительном эксперименте оценивали влияние NaCl в концентрации 0, 10, 25, 50, 75, 100, 150 и 200 мМ/л на удлинение корня и гипокотыля. На 5 день 10 мМ/л хлорида натрия не оказывал влияния на процессы роста. При действии 25 мМ/л абсолютная скорость роста корня и гипокотыля составила 0,47 и 0,44. Действие 75 мМ/л приводило к замедлению скорости роста корня и гипокотыля (абсолютная скорость роста 0,15 и 0,26 соответственно против 0,55 и 0,59 в контроле). Так как снижение скорости роста растений наблюдается при действии 25 мМ/л, данная концентрация была выбрана для эксперимента.

Хлоридное засоление привело к снижению роста *Z. elegans* на 14-35 день эксперимента. Высота растений уменьшилась на 17,7% по сравнению с контролем. Удельная скорость роста составила 1,9 против 2,3 в контроле. Концентрация пероксида водорода снизилась в корнях на 32% и составила 0,25 мкмоль/г сырого веса против 0,38 мкмоль/г сырого веса в контроле. В стеблях уровень пероксида водорода не изменился.

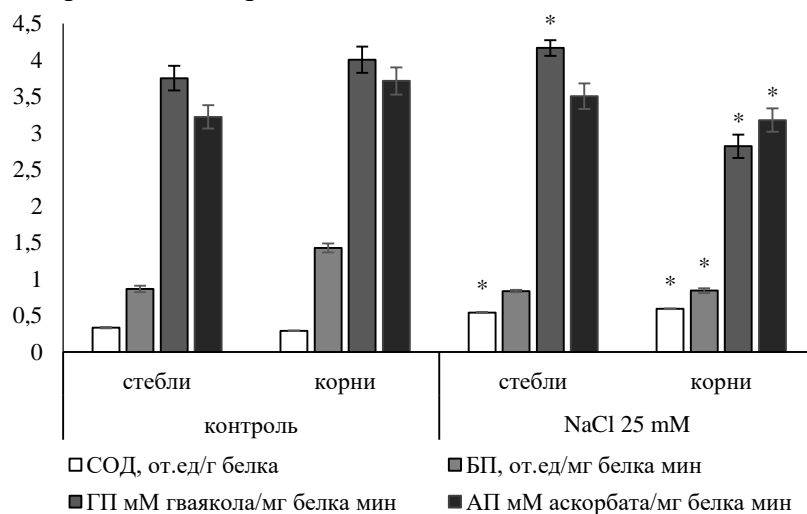


Рис. 1. Активность антиоксидантных ферментов в тканях корня и стебля *Z. elegans* в ответ на длительное засоление (среднее  $\pm$  стандартное отклонение, \* – значимое отличие от контроля, U-критерий,  $p \leq 0,05$ ).

Активность антиоксидантных ферментов в тканях корня и побега изменилась в ответ на действие 25 мМ/л NaCl (рисунок 1). Ферментативная активность СОД в тканях корня и стебля возросла в 2 и 1,6 раза соответственно. Активность БП в тканях корня снизилась на 41% относительно активности фермента в контроле; в стебле не наблюдалось значимых отличий. Ферментативная активность ГП и АП в корне упала на 30 и 14%. В тканях стебля активность ГП возросла на 11% по сравнению с контролем, в то время как активность АП не изменилась. Корень как барьерный орган испытывает на себе токсическое и осмотические влияние NaCl [3]. Маркером окислительного стресса является высокая ферментативная активность СОД, которая катализирует реакцию превращения супероксидного радикала в

пероксид водорода. Снижение концентрации пероксида возможно связано с активностью других ферментов антиоксидантной системы растений (каталаза, глутатионредуктаза) [3]. Длительный солевой стресс привел к ингибированию активности бензидиновой, гваяколовой и аскорбат-пероксидазы в корнях *Z. elegans*.

В стебле эффект засоления был выражен слабее по сравнению с корнем. Содержание пероксида снизилось, что положительно коррелирует с возрастающей активностью АП и ГП.

Таким образом, при культивировании *Z. elegans* на среде с добавлением 25 мМ/л NaCl ингибировался рост. Солевой стресс способствовал увеличению активности СОД в тканях корня и стебля. Активность пероксидаз в корне при длительном стрессе снизилась. На основании вышеперечисленного можно утверждать, что *Z. elegans* имеет низкую толерантность к хлоридному засолению.

#### Библиографический список

1. Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. // Annu Rev Plant Biol. 2008. Vol. 59. P. 651–81.
2. Методы оценки антиоксидантного статуса растений / Г.Г. Борисова и др. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. 72 с.
3. Hernandez M., Fernandez-Garcia N., Diaz-Vivancos P., Olmos E. A different role for hydrogen peroxide and the antioxidative system under short and long salt stress in *Brassica oleracea* roots // J Exp Bot. 2010. Vol. 61 (2). P. 521–535.

## СОДЕРЖАНИЕ РАДИОНУКЛИДОВ В ПОЧВАХ АНТРОПОГЕННО-ИЗМЕНЕННЫХ ФИТОЦЕНОЗОВ И РЕЧНЫХ ДОЛИН ТОБОЛЬСКОГО И ВАГАЙСКОГО РАЙОНОВ ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Сапцын Р.В.<sup>1</sup>, Устюжанцев М.В.<sup>1</sup>, Алимова Г.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup>Тобольская комплексная научная станция УрО РАН, г. Тобольск, Россия

Современное радиационное состояние природной среды обусловлено несколькими путями поступления радиоактивных элементов: 1) естественный путь (поступление из горных пород при процессах выветривания); 2) промышленный путь (выбросы производства); 3) горная промышленность и металлургия (поступление радиоактивных элементов при эксплуатации карьеров); 4) масштабные испытания ядерного оружия и аварии на АЭС.

Значительная часть радиоактивных изотопов, попадая на земную поверхность с осадками, мигрирует с поверхностным стоком в реки, грунтовые воды и проникает в почву. Затем происходит закрепление элементов в биоценотической системе «почва-растение».

В литературе встречается небольшое количество работ, посвященных радиоэкологии почв и водных систем на территории РФ [1,2]. Работы, проведенные в Тюменской области так же немногочисленны [3].

В период июнь-август 2018 года был проведен первичный мониторинг почвенного покрова антропогенно-измененных фитоценозов и почв речных долин Тобольского и Вагайского районов Тюменской области. Цель работы – первичная оценка эколого-радиационного состояния компонентов природной среды. Ранее подобных исследований на указанной территории не проводилось.

Почвенные условия Тобольского и Вагайского районов: В названных ландшафтно-геохимических условиях ведущими почвообразовательными макропроцессами являются гумусонакопление, оподзоливание, оглеение и торфонакопление.

В западной части Тобольского материка преобладают дерново-сильнопodzолистые глубинно-глееватые почвы со вторым гумусовым горизонтом. Вместе с ними встречаются дерново-подзолисто-глеевые почвы со вторым гумусовым горизонтом, а также дерново-глеевые и глееватые оподзоленные почвы. Для пойменного комплекса характерны аллювиальные дерново-глеевые почвы в сочетании с пойменными луговыми при частой смене гранулометрического состава [4].

Согласно региональному почвенно-географическому районированию, данная территория попадает в пределы Туртас-Иртышского района вторично-дерново-подзолистых и торфяно-болотных почв. Для него характерны: хорошая дренированность, развитая овражно-балочная сеть, широкое распространение реликтов в виде почв со вторым гумусовым горизонтом и погребенных почвенных горизонтов в толще плейстоценовых озерно-аллювиальных отложений. Наряду с этим, около половины территории района занимают низинные и верховые торфяники. [5].

В таблицах приведены полученные данные по содержанию некоторых радионуклидов. Указано среднее значение для радиоактивного элемента по всему профилю почвы.

Таблица 1

Суммарное содержание радионуклидов в почвенном покрове антропогенно-измененных фитоценозов Тобольского и Вагайского районов Тюменской области

Место заложения почвенного разреза	Тип почвы	Масса пробы (г)	Cs-137 (Бк/кг)	Th-232 (Бк/кг)	Ra-226 (Бк/кг)	Аэфф
N58°07.2379', E 68°12.8276 около свалки твердых бытовых отходов	Дерново-луговая оглеенная	510	3,1±1,05	16,6±3,1	15,8±3,1	50,99±4,01
N 58°09.817', E 68°17.284' около свалки твердых бытовых отходов. Заливная пойма р.Иртыш	Дерново-луговая оглеенная	425	2,17±0,2	10,44±0,6	15,18±3,01	20,6±3,1
N 58°38.633', E 068°33.920' около свалки твердых бытовых отходов	Дерново-луговая оглеенная с погребенным гумусовым горизонтом	450	3,46±0,53 (в [A]=20,5)	10,4±1,18	21,8±2,4	54,4±4,8
N 58°09.327, E 68°22.855 смешанный лес у автодороги	Серая лесная	401	5,8±1,5	15,7±1,4(в A=30,8)	9,7±2,1	59,48±2,6
N 58°09.327, E 68°22.855 смешанный лес у автодороги	Среднеподзолистая почва с погребенным гумусовым	456	9,4±4,9	7,6±3,1	21,7±3,5	37,13±2,7
N 57°53.477', E 068°07.235' вдоль автотрассы Тюмень-Ханты-Мансийск	Дерново-луговая оглеенная почва с погребенным гумусовым	454	4,04±0,39	19,3±2,7	11,8±3,7	69,4±3,9
N 58°19.009', E 068°20.264' у песчаного карьера, вдоль федеральной трассы Тюмень-Ханты-Мансийск	Подзолистая почва	567	36,4±15,2	9±1,7	21,9±6,2	49,5±3,4
N 58°01.335', E 068°56.814 Сосновый лес (без антропогенной нагрузки)	Дерново-подзолистая оглеенная почва	468	1,6±0,6 (в A <sub>0</sub> =35,1)	16,9±1,5	22±5,5	54,09±3,8

В почвенном профиле (0 – 120 см) концентрация анализируемых элементов несколько возрастала (за редким исключением) с верхних, органогенных, к нижним, литогенным, горизонтам (не показано).

В некоторых исследованных почвах содержание радионуклида для определенного горизонта отличалось (возрастало/уменьшалось) от среднего значения (указано в круглых скобках в таблице).

По полученным данным делать предварительные выводы затруднительно. Требуются повторные полевые и камеральные исследования региона.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках темы фундаментальных научных исследований "Антропогенная трансформация пойменных экосистем Обь-Иртышского бассейна" (№ АААА-А19-119012190088-0).*

Таблица 2

Суммарное содержание радионуклидов в почвах речных долин Тобольского и Вагайского районов Тюменской области

Место заложения почвенного разреза	Тип почвы	Масса пробы, г	Cs-137 (Бк/кг)	Th-232 (Бк/кг)	Ra-226 (Бк/кг)	Аэфф
N 58°07.134', E 068°11' терраса р.Тобол пойменный луг	Дерново-луговая	471	0,44±0,71 (в A <sub>d</sub> =7,8)	22,3±29	15,4±6,2	54,7±0,6
N 58°09.779', E 068°18.215' терраса р.Иртыш пойменный луг	Дерново-луговая	418	5,96±1.19 (в C=0.115)	11,27±1,8	18,7±4	60,35±5,1
N 58°09.017', E 68°22.717' высокая терраса р. Иртыш смешанный лес	Серая лесная	393	4,46±1,8	17,1±4,5	32,04±6,4	70,11±9,5
N 58°09.137', E 068°21.557' пойма р.Иртыш	Аллювиальная серогумусовая	364	4,16±1,01	21,2±3,3	14,7±3,8	74,5±4,8
N 57°57.596', E 068°04.299' пойма р.Тобол	Аллювиальная слоистая серогумусовая	500	12,12±0,01	21,8±0,02	8,1±2,5	69,9±0,38
N 57°53.473', E 068°01.633' терраса р.Тобол пойменный луг	Дерново-луговая	417	2,29±0,7	18,2±2,7	13,9±2,6	61,1±2,4
N 57°59.486', E 069°16.445' пойма р.Тобол	Серогумусовая аллювиальная слоистая оглееная	412	3,04±0,8	20,9±5,7	17,9±9 (в A=40,4)	78,9±4,9
N 57°58.367', E 068°59.936' пойменная часть слияния рек Вагай и Иртыш	Серогумусовая почва с двумя погребенными гумусовыми	505	2,13±0,8	15,96±2,3	11,8±3,4	67,97±5,4

**Библиографический список**

1. Трапезников А.В. Распределение радионуклидов в воде, донных отложениях и пойменных почвах нижней оби в границах ямало-ненецкого автономного округа // Радиационная биология.Радиоэкология.-2018.-том 58,№4-С.406-414.

2. Страховенко В.Д. Содержание радиоактивных элементов в почвах Сибири // Международная научно-практическая конференция «Радиоэкология XXI века», сборник материалов. – Красноярск: Сибирский федеральный ун-т, 2011
3. Бурлаенко В.З. Оценка радиационного состояния компонентов природной среды юга Тюменской области: диссертация... кандидата биологических наук: 03.02.08 / Бурлаенко Василия Зиннуровна-Тюмень, 2018-147 с.
4. Атлас Тюменской области. Вып. 1. М.-Тюмень: ГУГК, 1971. 27 л.
5. Каретин Л.Н. Почвы Тюменской области. Новосибирск: «Наука», 1990. 286 с.

## **СВОЙСТВА ПОЧВ ООПТ «ЧЕРНЯЕВСКИЙ ЛЕС» ВБЛИЗИ АВТОМАГИСТРАЛЕЙ**

Ступалова А.Н.

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный аграрно-технологический университет им. ак.  
Д.Н.Прянишникова», г. Пермь, Россия*

***Научный руководитель: к. х. н., доцент Пименова Е.В.***

ООПТ «Черняевский лес» представляет собой лесной массив, расположенный в Индустриальном и Дзержинском районах г. Перми. Он ограничен с севера и северо-востока ул. Подлесной, с юга и юго-востока шоссе Космонавтов, с запада ул. Встречной. Лесопарк расположен в пределах возвышенной волнисто-вогнутой равнины Пермского Прикамья в подзоне южной тайги. Рельеф территории сформирован р. Камой [2].

Целью данных исследований было изучение агрохимических характеристик почв, оценка их загрязнения тяжелыми металлами (ТМ) и ферментативной активности на разном удалении от автомагистралей.

Методы проведения исследований. Первый исследуемый участок находился в 10 м от границы леса вдоль ул. Шоссе Космонавтов и в 10 м от границы леса ул. Подлесной, второй участок располагался в 90 м от ул. Шоссе Космонавтов и в 10 м от ул. Подлесной и третий участок удален от ул. Шоссе Космонавтов на 180 м и от ул. Подлесной на 800 м, соответственно. В сентябре 2017 года были отобраны объединенные пробы почвы с участка 5×5 м из слоя 0-20 см. Анализ агрохимических свойств почвы проводился в лаборатории ФГБУ ГЦАС «Пермский» по общепринятым методикам. Целлюлозолитическая активность определялась по убыли целлюлозы в лабораторном опыте, нитрифицирующая активность по Кравкову, каталазная активность – газометрическим методом [3], уреазная активность экспресс-методом по Аристовской [2].

### **Результаты**

ООПТ «Черняевский лес» находится фактически в центре промышленно развитого города. Здесь нельзя исключить загрязнения почв как вследствие выбросов предприятий города, прежде всего Осенцовского промышленного узла, так и загрязнения от автомагистралей. По мере удаления вглубь леса возможность аэротехногенного загрязнения почв должна уменьшаться. Как показали результаты исследований, агрохимические показатели почв – содержание органического вещества, фосфора и калия на самом удаленном вглубь леса третьем участке близки к типичным показателям характерных для данной территории дерново-подзолистых почв. По мере приближения к автодорогам содержание органического вещества в почве изменяется с повышенного до высокого (6,60-9,52%), содержание фосфора от очень низкого (48 мг/кг) до высокого (180,47 мг/кг) на втором участке и становится повышенным (115 мг/кг) на первом участке. Содержание калия

по мере удаления от дороги меняется от очень высокого до среднего (311 и 114 мг/кг), соответственно. Нельзя исключить, что изменение видового состава древесных растений от хвойных к лиственным может повлиять на изменение агрохимические показатели лесных почв. Однако содержание органического углерода, на основании определения которого рассчитывалось содержание гумуса, может изменяться и за счет загрязнения почв органическими веществами, в частности, летучими органическими соединениями и нефтепродуктами, попадающими в почву с выбросами автотранспорта.

По мере удаления от Шоссе Космонавтов вглубь леса реакция среды солевой вытяжки почвы изменяется от нейтральной ( $pH_{KCl} = 6,61$ ) до сильнокислой ( $pH_{KCl} = 4,25$ ), емкость катионного обмена ЕКО изменяется от высокой до средней (37,5 и 25,0 мг-экв./ 100 г, соответственно), степень насыщенности основаниями изменяется с высокой до средней (96,5 и 63,8 %, соответственно). Т.о, на удалении от дорог реакция почвенной вытяжки становится сильнокислой, что характерно для почв хвойных лесов нашей зоны. Подщелачивание почвы характерно для урбанизированных территорий, если подкисляющее влияние выхлопных газов оказывается меньше, чем подщелачивающее действие пыли строительных материалов, нефтепродуктов и др.

Валовое содержание тяжелых металлов в почве не превышает ПДК. Содержание цинка, меди, кадмия выше на первом участке, причем содержание цинка и кадмия уменьшается по мере удаления от магистрали по ул. Шоссе Космонавтов. Валовое содержание валовых свинца максимально на третьем участке, оно составляет 0,42 ПДК, здесь же наблюдается и максимальная концентрация его подвижных форм. Доля подвижных форм составляет для свинца до 15%, для кадмия до 53%. Высокая емкость катионного обмена почвы на первом участке может способствовать нахождению тяжелых металлов в форме, малодоступной для растений.

Целлюлозолитическая активность почв ООПТ «Черняевский лес» изменяется в первой и второй точках от сильной (77-65%) до очень сильной в третьей точке (85%). Нитрифицирующая способность во всех анализируемых пробах очень высокая. Повышенная нитрифицирующая активность обычно характерна для окультуренных почв, богатых азотом. Но активное протекание нитрификации также ведёт к потерям азота в форме нитратов, вымываемых в грунтовые воды, а также в форме газообразных соединений. Каталазная активность почв во всех трех пробах оказалась равна нулю. Известно, что каталазная активность даже незагрязненных дерново-подзолистых почв очень невысока, а при загрязнении ТМ она еще снижается. Уреазная активность почвы во всех образцах высокая.

**Выводы.**

На ООПТ Черняевский лес в точке Шоссе Космонавтов 180 м и Подлесной 800 м агрохимические показатели характерны для дерново-подзолистых почв, по мере приближения к городской магистрали все исследованные агрохимические показатели возрастают, за исключением гидролитической кислотности. Валовое содержание тяжелых металлов в почве ООПТ Черняевский лес не превышает ПДК. Целлюлозолитическая активность почв на ООПТ сильная и очень сильная, нитрифицирующая способность очень высокая. По степени обеспеченности каталазой почвы очень бедные, уреазная активность почвы высокая.

#### **Библиографический список**

- 1 Каменщикова В. И., Еремченко О. З., Шестаков И. Е. Биохимическая активность почв г. Перми // Вестник Пермского университета. 2011. № 2. С. 38-40.
- 2 Кувшинская Л. В., Андреев Д. Н. Структура почвенного покрова ООПТ Черняевский лесопарк г. Перми // Вестник Пермского университета. 2009. С. 408-413.
- 3 Практикум по агрохимии. Под ред. В. Г. Минеева. - МГУ им. Ломоносова, 2001. - 687 с.

# ХЛОРИДНОЕ ЗАСОЛЕНИЕ ВЛИЯЕТ НА ЛИГНИФИКАЦИЮ ПОБЕГОВ ЦИННИИ

Тугбаева А.С., Ермошин А.А., Плотников Д.С.

Институт естественных наук и математики ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Научный руководитель: доцент, к.б.н. Киселева И.С.

Засоление почвы является абиотическим фактором, который влияет на рост, развитие и продуктивность растений. Высокое содержание солей вызывает осмотический стресс и оказывает токсическое действие на клеточные структуры и биохимические процессы. В ответ на засоление в растениях увеличивается содержание активных форм кислорода, в том числе  $H_2O_2$  и развивается окислительный стресс. Низкий уровень активных форм кислорода в клетке поддерживается благодаря работе антиоксидантных ферментов – каталазы, пероксидазы и супероксиддисмутаза. С другой стороны, локальные изменения концентрации пероксида водорода в тканях являются сигналом для модификации работы генов, кодирующих ферменты биосинтеза лигнина. Лигнин придает клеточной стенке прочность и гидрофобность.

Цель работы – выявить изменения роста и лигнификации, активности супероксиддисмутазы и гваяколовой пероксидазы растений *Zinnia elegans* в условиях засоления.

*Zinnia elegans* Jacq. – одно из модельных растений для изучения процессов лигнификации клеточной стенки. Растения выращивали в горшках с почвенной смесью объемом 250 мл до достижения возраста 50 дней (стадия бутонизации). Первые 25 дней растения поливали дистиллированной водой с добавлением 0, 25 и 50 мМ/л NaCl. С 25 по 50 день – дистиллированной водой. Измеряли высоту растений (выборка – 30 растений каждой группы), определяли активность ферментов – гваяколовой пероксидазы, супероксиддисмутаза и содержание пероксида водорода спектрофотометрическими методами в тканях стебля в трех биологических и трех аналитических повторностях [1], количество лигнина определяли сернокислотным методом (три биологические и три аналитические повторности) [2]. Статистическую обработку проводили в программе Statistica 10 с применением t-критерия Стьюдента и непараметрического критерия Манна-Уитни.

Хлоридное засоление почвы ингибировало апикальный рост *Z. elegans*. При действии 50 мМ/л NaCl наблюдалось снижение высоты растений по сравнению с контролем на 36,9% (рисунок 1). Культивирование растений на субстрате с добавлением 50 мМ/л NaCl привело к увеличению общего содержания лигнина в 1,25 раза (14,74% против 11,75 % от сухой массы в контроле). При действии 25 мМ/л NaCl содержание лигнина в тканях стебля не изменилось.

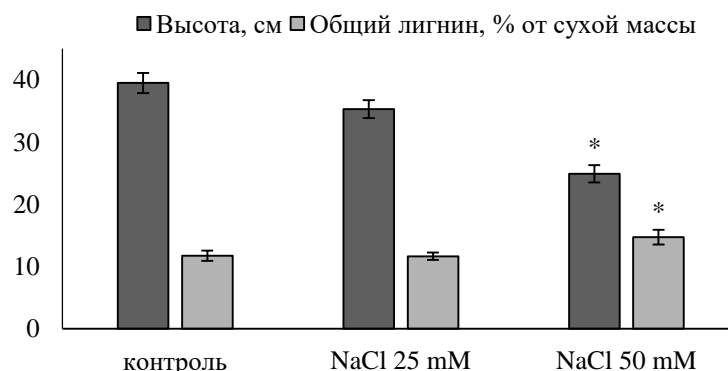


Рис. 1. Длина стебля и содержание общего лигнина в 50-дневных растениях *Z. elegans* в условиях засоления (среднее  $\pm$  стандартное отклонение; \* – достоверное отличие от контроля, t-критерий Стьюдента).



Анализ содержания пероксида водорода в тканях стебля не выявил достоверных отличий от контроля при действии 25 и 50 мМ/л NaCl.

Активность антиоксидантных ферментов в тканях стеблей снижалась в условиях засоления. Активность гваяколовой пероксидазы уменьшилась на 37,3 и 19,6% при действии на растения 25 и 50 мМ/л NaCl, активность супероксиддисмутазы снизилась на 40,5 и 26,5% соответственно относительно контроля. В эксперименте влияние 25 и 50 мМ/л NaCl привело к разным эффектам на процессы роста и лигнификации растений *Z. elegans*. Хлоридное засоление в концентрации 25 мМ/л не оказывало воздействия на исследуемые параметры. Напротив, засоление в концентрации 50 мМ/л оказывало ингибирующее влияние на рост и способствовало лигнификации клеточной стенки. Мы предполагаем, что к снижению высоты растений привели нарушения в растяжении клеточной стенки из-за увеличения содержания лигнина. Согласно исследованиям [3], солевой стресс оказывал влияние на образование вторичной клеточной стенки двудольных растений томата, сои. Отмечено увеличение лигнификации клеточной стенки корня и стебля, и как следствие ингибирование роста растений [3]. На уровне работы ферментов влияние 25 и 50 мМ/л NaCl привело к снижению активности антиоксидантных ферментов. Супероксиддисмутаза катализирует превращение супероксидного радикала в пероксид водорода, который необходим для окисления субстратов пероксидазами. Низкое содержание пероксида водорода в тканях стебля *Z. elegans* на 50 день коррелирует с низкой ферментативной активностью супероксиддисмутазы и гваяколовой пероксидазы. Биохимические исследования роли пероксида водорода в процессах биосинтеза лигнина показали [4], что низкие концентрации эндогенного пероксида водорода выступают в качестве сигнальной молекулы и активируют полимеризацию монолигнолов в растениях люпина, арабидопсиса. В растениях *Z. elegans* было показано, что пик содержания пероксида водорода и изменение активности пероксидаз в клетках ксилемы строго регулируется процессами развития и приходится на момент начала полимеризации монолигнолов (2 стадия роста) [4]. В образовании фенольных предшественников лигнина задействованы основные и кислотные пероксидазы третьего класса, которые окисляют оксикоричные кислоты, разлагая пероксид водорода. В условиях засоления усиливалась экспрессия H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-зависимой пероксидазы в растениях томата, которая задействована в лигнификации клеточной стенки [4].

Таким образом, действие 50 мМ/л NaCl стимулировало процессы лигнификации клеточной стенки привело к снижению роста растений *Z. elegans*. Содержание пероксида водорода в тканях стебля 50-дневных растений в ответ на засоление не изменилось, что объясняет низкую активность антиоксидантных ферментов. Увеличение содержания лигнина в ответ на засоление является одним из механизмов адаптации растений к стрессовому воздействию.

#### Библиографический список

1. Методы оценки антиоксидантного статуса растений / Г.Г. Борисова и др. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2012. 72 с.
2. Уайз Л.Э., Джан Э.С., Химия древесины / Пер. с англ. Москва - Ленинград, 1959. Т. 1. 351 с.
3. Le Gall H., Philippe F., Domon J.M., Gillet F., Pelloux J., Rayon C. Cell wall metabolism in response to abiotic stress // *Plants (Basel)*. 2015. Vol. 4 (1). P. 112-66.
4. Ros-Barcelo A., Pomar F., Lopez-Serrano M., Martinez P. Developmental regulation of the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-producing system and of a basic peroxidase isoenzyme in the *Zinnia elegans* lignifying xylem // *Plant physiology and biochemistry*. 2002. Vol. 40 (4). P. 325-332.

# НАКОПЛЕНИЕ ПРОЛИНА В ЛИСТЬЯХ ОВСА ПОСЕВНОГО В СВЯЗИ С АДАПТАЦИЕЙ К ПОВЫШЕННОМУ СОДЕРЖАНИЮ СОЛЕЙ И РАЗНОМУ рН-УРОВНЮ В ПОЧВЕ

Устинова К.И.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Четина О.А.**

Засоление – одно из серьезных и постоянно действующих отрицательных факторов, воздействующих на растения. Этот фактор негативно влияет на процессы жизнедеятельности растительного организма. В почвах накопление солей может сопровождаться увеличением рН или, наоборот, понижением. В свою очередь для большинства сельскохозяйственных культур, в особенности для молодых растений, требуется благоприятная среда близкая к 6,5 рН. Таким образом, исследование механизмов устойчивости растений к совместному воздействию засоления и рН является актуальным [1].

Цель исследования – изучить накопление пролина в листьях овса посевного в связи с адаптацией к повышенному содержанию солей и разному рН-уровню в почве

В качестве объекта исследования в работе использовался овёс посевной *Avena sativa* L., несортной. Семена овса посевного выращивали в контейнерах с дерново-подзолистой почвой (элювиальный горизонт) в различных сочетаниях рН-уровня (рН 4,9; 7,1 и 8,2) и засоления (0,5% и 1%). Исходный рН-уровень почвы 4,9. Нейтральная среда создавалась добавлением  $\text{CaCO}_3$  (рН=7,1), щелочная среда –  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (рН=8,2). Засоление  $\text{NaCl}$  создавалось в %-ном отношении к сухому весу почвы. Контролем являлся вариант без засоления с рН 7,1.

У растений определяли всхожесть, пролин – методом Бейтса (в трехкратной повторности). Эти показатели определялись на 8 день после появления всходов. Изменение высоты надземной части растений оценивалось в течение 8 дней с момента появления всходов, в 30-ти кратной повторности. Данные обработаны с применением пакета статистических программ Stadia 8.0 и использованием методов описательной статистики, гистограммы и теста нормальности, сдвига/положения, непараметрической корреляции, регрессионного и дисперсионного анализов.

Наиболее общим проявлением действия стрессоров является подавление роста и развития растений[2]. Результаты наших исследований показали, что максимальная всхожесть наблюдалась на контрольном варианте. На щелочной и кислой среде без засоления всхожесть была на 8 и 17% ниже контрольного варианта соответственно. Значительное снижение всхожести наблюдалось на вариантах с засолением 0,5%, на нейтральной среде в 6,6 раз ниже контрольного варианта, на кислой и щелочной среде – в 13 раз. На вариантах с засолением 1% семена не взошли.

При наблюдении за изменением длины надземной части растений оказалось, что кислый и щелочной уровень рН корневой среды без засоления снижают скорость роста овса (высота растений на опытных вариантах на 18–22% ниже контрольного на 8 день после появления всходов) (рис. 1).

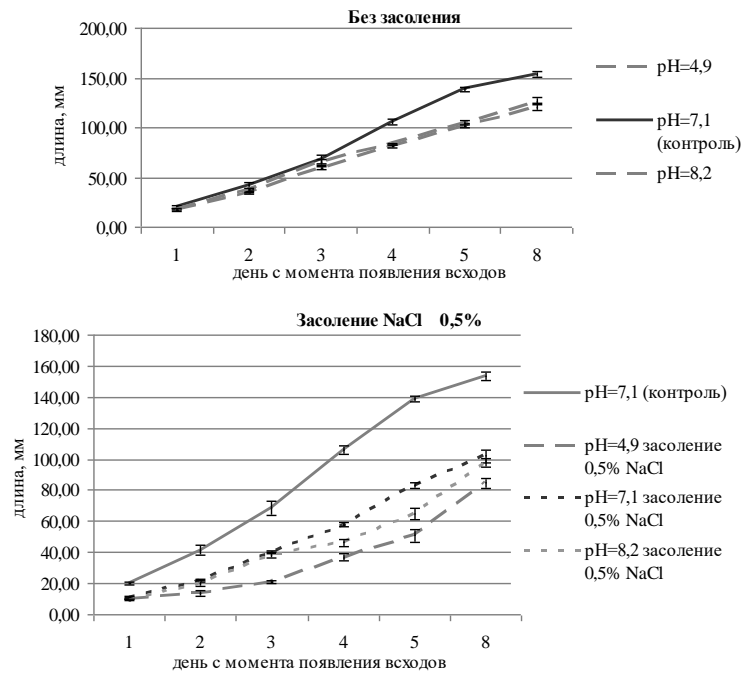


Рис. 1. Длина надземной части овса посевного при разном рН-уровне в почве и засолении

На всех вариантах сочетания разных уровней рН с засолением 0,5 % NaCl наблюдается существенное снижение высоты растений относительно контрольного варианта (на 36–45% ниже контрольного варианта на 8 день после появления всходов) (рис. 1). Сильнее всего подавлялся рост при сочетании факторов засоления и кислой рН корневой среды, что может быть связано не только с действием NaCl и кислотностью среды, но и с дополнительным негативным влиянием токсичных катионов почвы, таких как  $Al^{3+}$  и  $Mn^{2+}$  [3]. При проведении двухфакторного дисперсионного анализа обнаружено достоверное влияние засоления на длину надземной части овса в течение всего периода роста (показатель силы влияния в течение 8 дней после появления всходов варьировал в диапазоне 72,74% – 90,55%), рН среды достоверно влияет на длину надземной части овса во второй ( $F=22,12$ ,  $P=0,042$ , сила влияния фактора 9,04%) и четвертый день наблюдений ( $F=5,061$ ,  $P=0,048$ , сила влияния фактора 16,53%). Медленный рост позволяет растениям выживать при стрессе, так как освобождает множество ресурсов (строительных блоков и энергии), необходимых для реализации защитной программы [2].

Свободный пролин при стрессе обладает полифункциональным биологическим эффектом, который проявляется не только в осморегуляторной, но также и в антиоксидантной, энергетической и других функциях, обеспечивающих поддержание клеточного гомеостаза и его переход в новое адаптивное состояние [4]. Максимальным содержанием пролина в надземных органах овса посевного отличались варианты с засолением, особенно на почве с нейтральной рН (выше в 3 раза относительно контроля), что свидетельствует об осморегуляторной роли этой аминокислоты (рис. 2). В большинстве исследований феномен накопления пролина связывается с устойчивостью к стрессу. Подтверждением этому служит лучшая адаптация и выживание видов, накапливающих пролин в условиях водного дефицита и засоления [5].

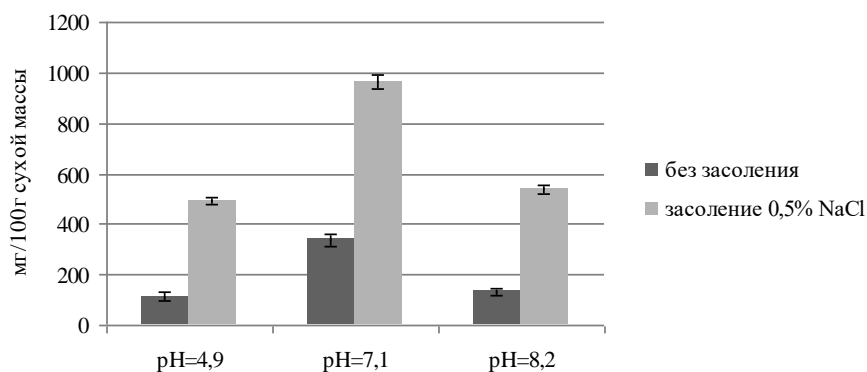


Рис. 2. Содержание пролина в надземной части овса посевного при разных уровнях pH и засолении почвы

На кислой и щелочной среде в сочетании с засолением количество пролина снижено относительно нейтральной среды на 49 и 44% соответственно, но выше контрольного варианта. На вариантах без засоления уровень пролина при кислой и щелочной реакции среды также был ниже нейтрального в 2,5–3 раза, что может свидетельствовать об ингибирующей роли крайних проявлений pH в почве. Снижение уровня пролина может также указывать и на повышенное его потребление в условиях стресса [6]. Проведенный двухфакторный дисперсионный анализ выявил достоверное влияние засоления на содержание пролина ( $F=35,5$ ,  $P=0,0007$ , сила влияния 66,5%).

Таким образом, засоление в сочетании с разными уровнями pH корневой среды вызывают торможение роста надземной части растений. Проллин участвует в формировании устойчивости овса посевного, т.к. с засолением уровень пролина значительно повышается на всех вариантах pH почвы относительно незасоленных вариантов.

#### Библиографический список

1. Лузина Е.В. Адаптация растений к засолению и ошелачиванию корневой среды // Вестник молодых ученых ПГНИУ: сб. науч. тр. Пермь, 2013. Вып. 3. С. 7-13.
2. Физиология растений / Алехина Н.Д., Балнокин Ю.В., Гавриленко В.Ф. и др. под ред. И. П. Ермакова. М.: Академия. 2005. 640 с.
3. Shavrukov Yu., Hirai Yo. Good and bad protons: genetic aspects of acidity stress responses in plants // Journal of Experimental Botany. 2016. V. 67, N 1 P. 15–30.
4. Кузнецов В. В., Шевякова Н. И. Проллин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // Физиология растений. 1999 Т. 46 № 2 С. 321–336.
5. Франко О.Л., Мело Ф.Р. Осмопротекторы: ответ растений на осмотический стресс // Физиология растений. 2000. Т. 47. № 1. С. 152-159.
6. Сергеева Л.Е., Бронникова Л.И., Тищенко Е.Н. Содержание свободного пролина как показатель жизнедеятельности клеточной культуры *Nicotiana tabacum* L. при стрессе // Биотехнология. 2011. Т.4. №4. С. 87-94.

# ДИНАМИКА КАДМИЕВОЙ УСТОЙЧИВОСТИ И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ПРОРОСТКОВ ОВСА В УСЛОВИЯХ ПРЕДОБРАБОТКИ ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРОЙ И ЭКЗОГЕННЫМ КАЛЬЦИЕМ

Чернышева Ю.Д.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Чудинова Л.А.**

В ряду тяжёлых металлов кадмий ( $Cd^{2+}$ ) часто рассматривается в качестве наиболее токсичного для растений элемента. Однако данные о влиянии  $Cd^{2+}$  на растения зачастую носят противоречивый характер [1]. Недостаточно исследовано действие  $Cd^{2+}$  в сочетании с другими стрессовыми факторами, а также при разных типах закаливания. Следует отметить крайне слабое изучение углеводно-ферментного комплекса в процессе адаптации растений к тяжелым металлам [2]. Кроме того, в большинстве работ не учитывалась компартментация сахаров, которая проявляется в том, что в определенных физиологических или биохимических процессах участвует не вся масса внутриклеточного вещества, а только некоторая его часть. Имеются пока единичные сведения об участии сигнальных посредников, в частности  $Ca^{2+}$ , в формировании физиологических реакций, обуславливающих устойчивость растений к стрессорам.

В связи с этим целью данной работы было изучение динамики кадмиевой устойчивости проростков овса посевного и содержания в них свободной (СФ) и компартментированной (КФ) фракций глюкозы и сахарозы, активности амилазы и инвертазы в условиях кадмиевого стресса при наличии и отсутствии предобработки повышенной температурой и экзогенного кальция.

Исследования проводили на 10-тидневных проростках овса посевного (*Avena sativa* L.), выращенных на вермикулите при комнатной температуре (20-23°C) в условиях естественного освещения, по следующей схеме: 1 вариант – контроль (23°C); 2 вариант – 1 мМ ацетат Cd; 3 вариант – 40°C, 4 ч, затем 1мМ ацетат Cd; 4 вариант – 1 мМ ацетат Cd + 40 мМ хлорид Ca; 5 вариант – 40°C, 4 ч, затем 1мМ ацетат Cd + 40 мМ хлорид Ca. Проростки анализировали на 4 и 9 сутки опыта: определяли длину и сырую массу побегов, количество СФ (экстракция 10 мин при 80°C) и КФ (экстракция 50 мин при 80°C) глюкозы и сахарозы [3], активность амилазы (по степени гидролиза крахмала) и инвертазы (по степени гидролиза сахарозы [4]). Повторность ростовых параметров – 20-тикратная, биохимических показателей – 3-хкратная. Оценку достоверности полученных данных проводили с помощью параметрических (ростовые параметры) и непараметрических (растворимые углеводы и ферменты) методов, используя программу Statistika.

Одним из ранних признаков повреждающего действия неблагоприятных факторов на растения является торможение ростовых процессов. Полученные нами результаты показали (рис. 1) слабое рост ингибирующее действие 1мМ  $Cd^{2+}$ , хотя по некоторым данным эту концентрацию расценивают как предлетальную. Тепловая предобработка и экспозиция с  $Ca^{2+}$  усилили рост ингибирующий эффект  $Cd^{2+}$  (вар. 3, 4, 5). Это, по-видимому, свидетельствует о суммировании отрицательных эффектов этих факторов. В литературе также имеются данные о разнонаправленности действия  $Cd^{2+}$  в зависимости как от его концентрации, так и от концентрации вносимого кальция [5].

Полученные нами результаты показали (рис.2), что в побегах овса контрольного варианта глюкоза присутствует в основном в свободной форме (СФ). В отношении сахарозы были выявлены в небольших количествах обе формы. 4х и 9ти суточный кадмиевый стресс оказал заметное влияние на содержание только КФ сахарозы, содержание которой снизилось по сравнению с контролем. Предобработка повышенной температурой вызвала перераспределение растворимых сахаров. Так, КФ глюкозы несколько возросла, а СФ сахарозы – упала, по сравнению со 2 вариантом. При экспозиции с кальцием (рис.2, вар. 4 и

5) наблюдали сильный рост КФ глюкозы и обеих фракций сахарозы, по сравнению с другими вариантами.

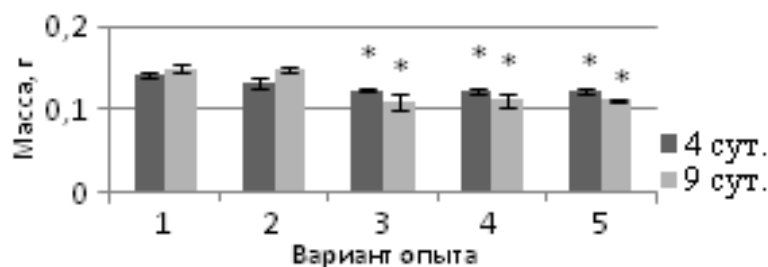


Рис. 1. Изменение биомассы проростков овса в контрольном и опытных вариантах

Выявленные особенности углеводного обмена у проростков овса свидетельствуют о перераспределении моно- и диформ сахаров, а также об изменении их компартментации в условиях кадмиевого стресса. Можно предположить, что в этих условиях происходит как активная метаболизация глюкозы, направленная на успешное протекание адаптивных реакций, так и накопление сахарозы. Наиболее интенсивно эти процессы осуществляются при экспозиции с кальцием.

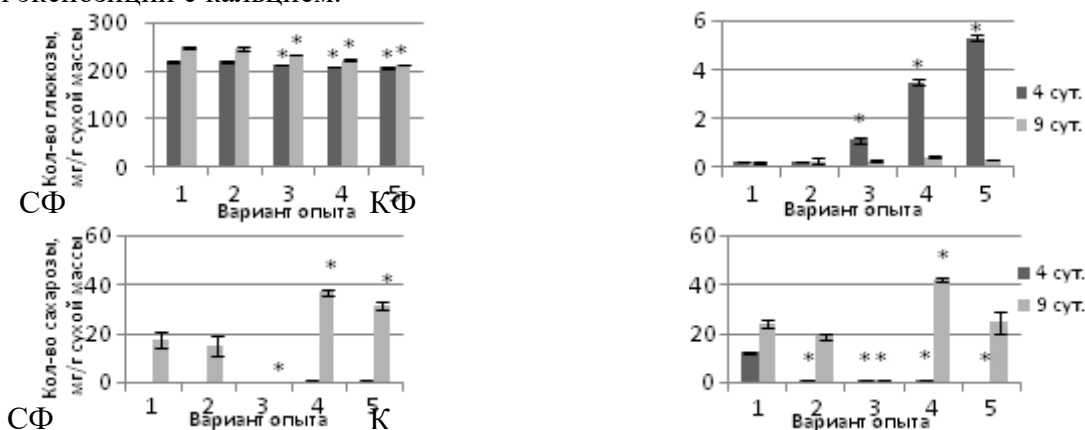


Рис. 2. Изменение содержания СФ и КФ глюкозы и сахарозы в проростках овса в контрольном и опытных вариантах

Установленное нами изменение компартментации глюкозы и сахарозы в условиях кадмиевого стресса, по-видимому, является условием реализации их защитных функций, которые зависят не столько от количества растворимых сахаров в клетках, сколько от их способности к метаболизации. Очевидно, что КФ сахара – это тот фонд, который может быть востребован клеткой в случае необходимости, например при адаптации к токсическому действию тяжелых металлов.

### Библиографический список

1. Титов А. Ф., Казнина Н. М., Таланова В. В. Тяжелые металлы и растения. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2014. 194 с.
2. Колупаев Ю.Е., Трунова Т.И. Особенности метаболизма и защитные функции углеводов растений в условиях стрессов // Физиол. и биохимия культ. раст. 1992. Т. 24, вып. 6. С. 523-530.
3. Большой практикум «Биохимия»: лабораторные работы / сост. Кусакина М.Г., Суворов В.И., Чудинова Л.А. Пермь: Изд-во ПГНИУ, 2012. С. 26-35.
4. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова Г.А., Иконникова Н.И. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат., 1987. 430 с.
5. Осмоловская Н.Г., Ву Вьет Зунг, Кудряшева З.К., Кучаева Л.Н., Попова Н.Ф. Влияние кадмия на распределение калия, кальция и аккумуляцию оксалата в растениях *Amaranthus cruentus* L. // Физиол. раст. 2018. Т.65, № 4. С.301-309.

## СЕКЦИЯ V

# ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ И ПРИКЛАДНАЯ МЕДИЦИНА, ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА, ИММУНОЛОГИЯ

## ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА

Бабичук А.А., Белкина Ю.А.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель:** зам. директора ИЭГМ УрО РАН по научной работе, д.м.н.,  
профессор Гейн С.В.

Стресс – это универсальная нейрогормональная реакция организма в виде напряжения неспецифических адаптационных механизмов в ответ на повреждение или сигнал угрозы жизни, проявляющаяся в повышении резистентности организма. Одним из видов стрессорного воздействия является холодовой стресс, который вызывается понижением температуры окружающей среды. Переохлаждение приводит к ухудшению двигательных и когнитивных функций, вызывает гормональный сдвиг и влияет на продукцию цитокинов. Опиоидные пептиды, секретируемые организмом в условиях стресса и адаптации, оказывают обезболивающий и иммунорегуляторный эффекты. Изучение механизмов регуляции функций иммунной системы при холодовом стрессе имеет большое практическое значение, поскольку большинство жителей России живут в области северных широт, постепенно подвергаясь резким колебаниям температуры, что в свою очередь оказывает существенное влияние на заболеваемость и продолжительность жизни.

Цель: исследовать влияние острого и хронического холодового стресса на показатели гуморального и клеточного иммунитета мышей *in vivo*.

Материалы и методы. Объектом исследования служили белые лабораторные мыши самцы породы Swiss массой 21-23 г. В качестве стрессорного воздействия была использована модель острого и хронического холодового стресса. При хроническом холодовом стрессе мышей охлаждали при 4<sup>0</sup>С в течение 4 ч в течение семи дней, при остром – однократно. Антагонист опиатных рецепторов налоксона гидрохлорид вводили в дозе 0,2 мг/кг подкожно за 20 минут до охлаждения и повторно через 3 часа после первого введения. Животные были разбиты на следующие группы: 1 группа – контрольная, 2 группа – стресс, 3 группа – стресс на фоне налоксона, 4 группа – введение одного налоксона. Мышей выводили из эксперимента непосредственно после охлаждения декапитацией под эфирным наркозом. Определение числа антителообразующих клеток (АОК) в селезенке и лимфатических узлах осуществляли методом Эрне [1], для оценки гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) использовали показатели индекса массы и размера стопы. Концентрацию цитокинов в супернатантах клеточных культур перитонеальных макрофагов определяли методом твердофазного ИФА с помощью тест-систем R&D(США). Статистическую обработку данных производили с помощью непарного t-критерия Стьюдента.

Установлено, что в условиях острого холодового стресса при системном и локальном введении антигена изменения количества АОК в селезенке и регионарных лимфатических узлах не зарегистрировано. На выраженность реакции ГЗТ острый холодовой стресс значимого влияния не оказал. При оценке влияния острого холодового стресса на продукцию цитокинов были получены следующие результаты. Стресс приводил к усилению спонтанной

продукции ИЛ-10, которое отменялось введением мышам налоксона. Изменения продукции ИЛ-1 при остром стрессе зарегистрировано не было. При анализе эффектов хронического стресса было установлено, что хронический голодовой стресс приводил к налоксон-зависимому угнетению количества АОК в селезенке при системной иммунизации. В условиях локальной иммунизации изменений антителогенеза не зарегистрировано. Таким образом, голодовой стресс модулирует функции клеток иммунной системы.

#### Библиографический список

1. Jerne N.K., Nordin A.A. Plaque formation in agar by single an-tibody-producing cells // Science. - 1963. - Vol. 140, N 3365. - P. 405-405.

## ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВ ЭРИТРОЦИТОВ КОСТНОГО МОЗГА И ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ

Бриллиант С.А. <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии УрО РАН», г. Екатеринбург, Россия

<sup>2</sup> ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», г. Екатеринбург, Россия

**Научный руководитель: проф., д.м.н. Юшков Б.Г.**

Известно, что изменение белковых фракций гемоглобина при экстремальных воздействиях на организм связано с изменением соотношения между отдельными популяциями эритроцитов, различающихся по содержанию отдельных изоформ. Однако, изменения соотношения изоформ костного мозга при действии на организм экстремальных факторов остается мало изученным. Установлено, что в основе сдвигов в соотношении гемоглобиновых фракций при действии на организм экстремальных факторов лежит перестройка эритропоэза. Однако, остаётся невыясненным вопрос о свойствах отдельных фракций, об изменении гемоглобинового профиля костного мозга, а также механизмы, регулирующие соотношение между фракциями гемоглобина костного мозга и периферической крови [1, 2].

В связи с этим, целью данного исследования являлось изучение изменения белков эритроцитов костного мозга и периферической крови у крыс после воздействия на организм экстремальных факторов.

**Материалы и методы исследования.** Исследования проводили на крысах линии Вистар массой 250-300г. Содержание и выведение животных из эксперимента выполняли согласно правилам, описанным Международным Советом Медицинских Научных обществ (СИОМС) в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985), в соответствии приказу Министерства здравоохранения РФ № 708н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Острую массивную кровопотерю вызывали однократным массивным кровопусканием из хвостовой вены под эфирным наркозом из расчёта 2,0-2,5 % от массы тела животного (35-40% от ОЦК). Острое асептическое воспаление вызывали путем введением под кожу спины скипидара в количестве 0,5 мл. Животных делили на 5 групп. Первая группа - интактные животные (n=10). Вторая (n=10) и третья (n=10) группы – крысы, у которых забор материала осуществляли спустя 6 ч и 2 сут после кровопускания. 4- я и 5-я группы - животные, у которых забор материала осуществляли спустя 6 ч и 2 сут после инициирования воспалительного процесса. *Животных выводили из эксперимента путем передозировки эфирного наркоза.* Для определения соотношения белковых фракций гемоглобина крови и костного мозга использовали метод электрофореза в



полиакриламидном геле по методу Г. Маурера. Статистическую обработку данных проводили с применением непараметрических методов статистики («Statistica 8.0»). Сравнение групп выполняли с использованием критерия Манна-Уитни. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** В ходе исследования было установлено, что у интактных животных общее содержание гемоглобина в костном мозге составило  $8,01 \pm 0,42$  г/л, в то время, как в периферической крови -  $135,6 \pm 1,9$  г/л, о чём свидетельствуют и данные других авторов [2, 3].

На ранние сроки (6 ч) после острой массивной кровопотери в костном мозге и периферической крови наблюдали изменения белковых фракций гемоглобина, обусловленные увеличением доли 5, 6 изоформ и снижением 3 белковой фракции. На поздние сроки (2 сут) при экспериментальном воздействии в костном мозге и периферической крови имело место параллельное увеличение 4 и 6 изоформ при снижении 3 фракции. В костном мозге дополнительно отмечается увеличение 1 и понижение 2 белковых фракций в сравнении с группой интактных животных.

На 6 ч после введения скипидара в костном мозге и периферической крови отмечали снижение содержания 1 и 2 белковых фракций за счет роста 5 и 6 изоформ. В костном мозге отмечали рост 3 изоформы. На 2 сут в периферической крови при развитии воспалительной реакции наблюдали увеличение содержания гемоглобинов 3, 4 фракций за счёт снижения содержания гемоглобина 1, 2, 5 и 6 изоформ. В костном мозге на поздний срок при воспалении количество гемоглобина 2 фракции приближалось к уровню интактных животных. Уровень гемоглобина 4 и 6 изоформ гемоглобина становился выше нормального за счет резкого уменьшения гемоглобина 3 белковой фракции.

**Выводы.** Таким образом, после кровопускания и острого асептического воспаления на ранних сроках в костном мозге и периферической крови отмечали однонаправленные изменения в соотношении белковых фракций гемоглобина, что вероятно свидетельствует об усилении компенсаторно-приспособительных механизмов организма в ответ на действие экстремальных факторов. На позднем сроке после данных экспериментальных воздействий наблюдали увеличение отдельных белковых фракций гемоглобина, что свидетельствовало о наработке молодых клеток в костном мозге с последующим их выходом в кровоток, с последующим перераспределением эритроидных клеток по организму для восстановления популяции эритроцитов.

#### **Библиографический список**

1. Блюменфельд Л. А. Гемоглобин. Соросовский образовательный журнал. 1998. №4. С.33-38.
2. Сумин М.Н. Гетерогенная система гемоглобина в условиях нормального и измененного эритропоэза / Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. - Екатеринбург. - 2002.- 170 с.
3. Юшков Б.Г., Климин В.Г., Северин М.В. Система крови и экстремальные воздействия на организм /Екатеринбург: УрО РАН. - 1999. -201 с.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИИФ УрО РАН (тема № АААА-А18-118020590108-7).

## ДЛЯ ЧЕГО ИММУННЫМ КЛЕТКАМ НУЖНЫ ПЛЕКСИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ SEMA4D?

Валиева Ю.В., Куклина Е.М.

*«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия*

Семафорин Sema4D является классической сигнальной молекулой, контролирующей направление роста нейронов и реализующей свои эффекты в нервной системе через высокоаффинный рецептор – плексин V1. Наряду с этим, данная молекула представлена в иммунной системе и играет важную роль в контроле иммунных реакций организма. Основным рецептором для Sema4D в иммунной системе является низкоаффинный CD72, и длительное время реализацию иммунорегуляторных эффектов семафорина приписывали исключительно этой молекуле. Однако в целом ряде недавних работ показано, что иммунные клетки несут на мембране плексिनные рецепторы, экспрессия которых до сих пор считалась характерной особенностью неиммунных тканей. Эти данные поднимают вопрос о функциях плексинных рецепторов в иммунной системе и их роли в Sema4D-зависимой иммунорегуляции. И наиболее вероятный процесс, контролируемый семафоринем через плексинные рецепторы – миграция иммуноцитов, поскольку в неиммунных клетках, таких как нейроны или эндотелиоциты, Sema4D/плексин V1-зависимый сигнал индуцирует перестройку цитоскелета и отвечает за клеточную подвижность.

### ***Плексинные рецепторы для Sema4D на иммунных клетках***

Высокоаффинный рецептор для Sema4D, плексин V1, выявлен на миелоидных дендритных клетках [1], на резидентных макрофагах мозга – микроглии, а также на незначительной части CD3+T-лимфоцитов [2]. Экспрессия другого плексинового рецептора, плексина V2, связывающего Sema4D с промежуточной аффинностью, выявлена на моноцитах, макрофагах [3], дендритных клетках [3], на B-лимфоцитах зародышевых центров в условиях иммунизации T-зависимыми антигенами, а также, в незначительной степени, на T-лимфоцитах (CD4+/-/CD8+-), NK- и NKT-клетках [3].

### ***Sema4D-зависимая регуляция миграции иммунных клеток***

Еще в ранних работах по семафорину было показано, что растворимый Sema4D (soluble Sema4D, sSema4D) способен ингибировать спонтанную и хемокин-индуцированную миграцию моноцитов человека [1, 4]. Кроме того, взаимодействие Sema4D на мембране эндотелия с плексинами на моноцитах человека участвует в адгезии моноцитов к эндотелию. Наряду с моноцитами, sSema4D подавляет миграцию резидентных макрофагов мозга, микроглиальных клеток, в ответ на липополисахарид. Косвенным свидетельством способности Sema4D негативно регулировать спонтанную подвижность макрофагов является существенное повышение этого показателя для плексин V2-/-- макрофагов [3]. Показано также, что sSema4D подавляет спонтанную и хемокин-индуцированную миграцию незрелых дендритных клеток [1], хотя зрелые дендриты не отвечают на действие семафорина [1]. Что касается роли Sema4D в миграции лимфоцитов, единственной работой, демонстрирующей такие эффекты, до сих пор остается работа 2001 г. S. Delaire с коллегами, в которой продемонстрирована способность sSema4D ингибировать миграцию B-лимфоцитов линии Eskol (линия пре-плазматических B-клеток) [4], но не клеток B12, представляющих собой клон тимических T-лимфоцитов [4]. Однако следует подчеркнуть, что, кроме того, что данные эффекты исследованы только на клеточных линиях, сами линии соответствуют довольно ограниченным лимфоцитарным популяциям: почти полностью дифференцированным B-лимфоцитам и незрелым T-клеткам (тимоцитам), поэтому вопрос о роли Sema4D в контроле миграции лимфоцитов, фактически, пока не решен.

Из представленных выше данных следует как минимум два важных вывода: с одной стороны, плексиновые рецепторы экспрессируются в большей или меньшей степени почти всеми типами иммунных клеток; с другой стороны, Sema4D способен регулировать миграцию различных клеток иммунной системы – как миелоидных, так и лимфоидных. Осталось только соединить эти два ряда данных и определить роль различных плексиновых рецепторов в регуляции миграции иммуноцитов семафоринем Sema4D, а также механизмы реализации этих эффектов. Решение этого вопроса имеет не только фундаментальное, но и очевидное практическое значение, в первую очередь – для лечения онкологических заболеваний.

Высокая экспрессия Sema4D показана для многих новообразований. При этом семафорин концентрируется на периферии инвазивной опухоли и действует как молекула наведения, ограничивая инфильтрацию опухоли лейкоцитами, в частности, моноцитами и CD8+Т-лимфоцитами [5], в связи с чем блокада Sema4D рассматривается в настоящее время как перспективный терапевтический подход в лечении онкопатологий. Механизмы этих эффектов семафорина не исследованы, но, учитывая представленные в работе данные, Sema4D-зависимое ингибирование инфильтрации опухоли лимфоидными клетками, вероятнее всего, реализуется именно через плексиновые рецепторы лимфоцитов.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-015-00367 и в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: 01201353248.*

#### **Библиографический список**

1. Chabbert-de Ponnat I., Marie-Cardine A., Pasterkamp R., Schiavon V., amagnone L., Thomasset N., Bensussan A., Boumsell L. Soluble CD100 functions on human monocytes and immature dendritic cells require plexin C1 and plexin B1, respectively // *International Immunology*. 2005. Vol. 17. P. 439–447.

2. Куклина Е. М., Некрасова И. В., Валиева Ю. В. Участие семафорина Sema4D в Т-зависимой активации В-лимфоцитов // *БЭБиМ*. 2017. Т. 163, N 4. С. 444-448.

3. Roney K., O'Connor B., Wen H., Holl E., Guthrie E., Davis B., Jones S., Jha S., Sharek L., Garcia-Mata R., Bear J., Ting J. Plexin-B2 Negatively Regulates Macrophage Motility, Rac, and Cdc42 Activation // *PLoS ONE*. 2001. Vol. 6. P. 1-14

4. Delaire S., Billard C., Tordjman R., Che'dotal A., Elhabazi A., Bensussan A., Boumsell L. Biological Activity of Soluble CD100. II. Soluble CD100, Similarly to H-SemaIII, Inhibits Immune Cell Migration // *The Journal of Immunology*. 2001. Vol. 166. P. 4348-4354.

5. Evans E., Jonason Jr A., Bussler H., Torno S., Veeraraghavan J., Reilly C., Doherty M., Seils J., Winter L., Mallow C., Kirk R., Howell A., Giralico S., Scrivens M., Klimatcheva K., Fisher T., Bowers W., Paris M., Smith E., Zauderer M. Antibody Blockade of Semaphorin 4D Promotes Immune Infiltration into Tumor and Enhances Response to Other Immunomodulatory Therapies // *Cancer Immunol Res*. 2015. Vol. 3. P. 689-702.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ «WATER POWER» В ЛЕЧЕНИИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Владимирская М.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава РФ, г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: к.б.н. Логинова Е.А.**

Сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной повышенной смертности и инвалидизации населения во всем мире, в том числе и в России. Провоцируют их развитие повышенное артериальное давление, гиперхолестеринемия, курение, неправильное питание, ожирение, излишнее употребление алкоголя, малоподвижный образ жизни. [3]

Артериальная гипертензия (АГ) как самый распространенный фактор риска, становится актуальнейшей проблемой эпидемиологии, так как ею страдает около 40% трудоспособного населения. [2] АГ также является одним из критериев клинической идентификации метаболического синдрома (МС) – комплексного нарушения обмена веществ, проявляющегося в ожирении по абдоминальному типу, гипергликемии и гиперхолестеринемии. [1]

Существующие методы медикаментозного лечения данных заболеваний хорошо известны и отрабатываются, но АГ и МС в своей основе – многофакторные нарушения, в генезе которых участвует множество патологических механизмов, поэтому представляется интересным изучать немедикаментозные методы лечения, которые способны воздействовать сразу на несколько компонентов патогенеза.

Вода «Water Power» с близким к клеточному рН – 7,5 и отрицательным окислительно-восстановительным потенциалом - -395мВ, полученная при помощи физикохимической модификации, может стать достаточно перспективным средством для профилактики и лечения АГ и МС.

Для исследования клинических эффектов воды «Water Power» в течение 3 месяцев на фоне стандартной гипотензивной терапии (ингибиторы АПФ, антагонисты кальция, аторвастатин) было проведено проспективное сравнительное рандомизированное исследование, в котором приняли участие 40 больных артериальной гипертензией и гиперхолестеринемией (ГХ) без клинически манифестного атеросклероза и ожирения, средний возраст 57 лет Me(Рe10% - 45, Рe90% - 68) и 40 больных метаболическим синдромом, средний возраст 58 лет Me(Рe10% - 46, Рe90% - 72). Внутри каждой группы были выделены подгруппы по 20 человек, сопоставимые по возрастно-половым характеристикам, получавшие и не получавшие продукт «Water Power».

В группах наблюдения и контроля до начала исследования и по истечении 3 месяцев проводились измерения объема талии, индекса массы тела (ИМТ), офисное измерение и суточный контроль (6 кратный) артериального давления (АД); общий анализ крови с подсчетом количества тромбоцитов; оценка процентного содержания жировой ткани, биохимическое исследование уровня глюкозы, общего холестерина (oХС), холестерина липопротеидов низкой, очень низкой и высокой плотности (ЛПНП, ЛПОНП, ЛПВП), триглицеридов (ТГ), расчет индекса атерогенности (ИА). Полученный материал обрабатывался с использованием прикладной статистической программы «Statistica 10».

По результатам исследования в обеих опытных группах было выявлено достоверное снижение АД (рис. 1), уровня ЛПНП, oХС, ТГ и ИА. Содержание ЛПОНП и ЛПВП оставалось без изменений (рис.2). В испытуемой группе с гиперхолестеринемией также было выявлено достоверное снижение содержания глюкозы в крови.

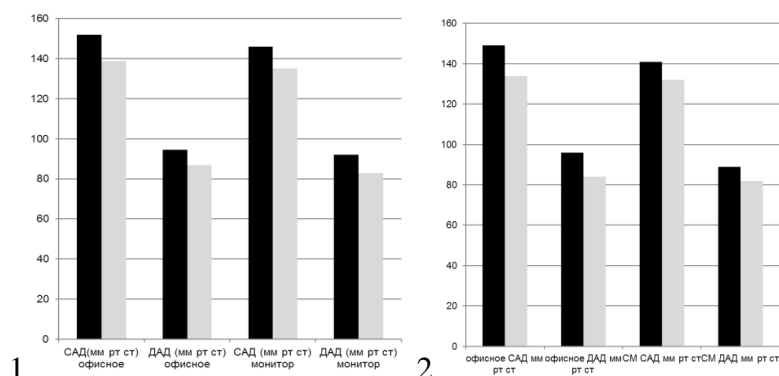


Рис. 1 Динамика АД в опытных группах: 1 – АГ и МС, 2 – АГ и ГХ

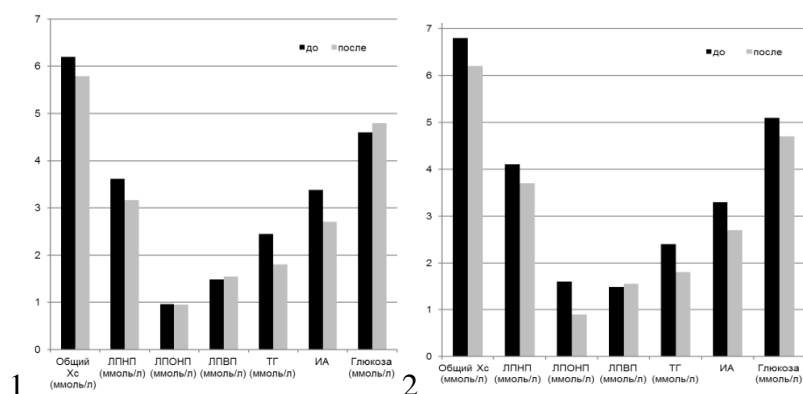


Рис. 2 Динамика липидограммы в опытных группах: 1 - АГ и МС, 2 - АГ и ГХ

На 4 % уменьшился ИМТ, на 2% - объем талии и около 5 % пришлось на снижение уровня жировой ткани. В отношении популяции форменных элементов крови, СОЭ и Hb не произошло достоверных изменений. В группах сравнения статистически значимых изменений не отмечено.

На основании проведенного исследования можно сделать заключение, что питьевая вода «Water Power» оказывает гипотензивное, гиполипидемическое действие, способствует снижению массы тела, объема талии, а также уровня жировой ткани, что может быть широко использовано в профилактике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний и ожирения.

### Библиографический список

1. Бокарев И.Н. Метаболический синдром // Клиническая медицина, № 8, 2014. С.71
2. Лубяко Е.А. Метаболический синдром: современный взгляд // Вестник угроведения № 1 (16), 2014. С.154
3. Павлова В.Н., Логинова Е.А. Изучение изменения уровня общего холестерина в крови у мужчин и женщин в разных возрастных категориях. // Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2018. С. 67

# ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ПРИ ВВЕДЕНИИ ЖЕЛЕЗОУГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ

Власова А.А.

ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

**Научный руководитель: к.б.н., доц. Храмцова Ю.С.**

**Введение.** На сегодняшний день наноматериалы, в том числе наночастицы (НЧ) завоевали широкий спектр различных отраслей фармакологии и медицины. Многообразие наночастиц позволяет использовать их для разнообразных целей: для нацеленной доставки лекарственных веществ, для визуализации морфологических изменений в органах и тканях, а также в качестве терапевтических средств [1]. Однако нахождение в организме чужеродного объекта в норме всегда сопровождается ответом иммунной системы, важным компонентом которой являются тучные клетки (ТК). ТК выступают в качестве центрального звена иммунологической регуляции и выступают в качестве ключевых эффекторов воспалительных и аллергических процессов [2], именно поэтому их реакция может являться отличным показателем биосовместимости наноматериала.

**Цель:** изучить реакцию тучных клеток различных органов на введение железоуглеродных наночастиц.

**Материалы и методы.** Работа была выполнена на 4х месячных крысах линии Вистар, которые были разделены на 4 группы: интактные животные и животные, выведенные из эксперимента на 1, 7 и 30 сутки после введения НЧ. Животным однократно в хвостовую вену вводили 0,7 мл суспензии наночастиц в модификации FeC (со структурой «ядро-(Fe)-углеродная оболочка»), их концентрация в растворе составляла 5 мг/мл. Затем производили забор органов (тимус, селезенка, печень, сердце, кожа, почки, легкие) и приготовление гистологических препаратов с использованием окраски на толуидиновый синий по стандартной методике. Концентрацию НЧ в тканях определяли с помощью магнитных измерений на весах Фарадея. На препаратах определяли число ТК, степень их грануляции, средний гистохимический коэффициент и индекс дегрануляции. Сравнение групп выполняли с помощью критерия Манна-Уитни. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Анализ данных по биораспределению НЧ показал, что фиксация наноматериала происходит в 6-ти органах [3]. Наибольшее содержание НЧ наблюдается в селезенке, печени и легких. Сердце, тимус и почки накапливают НЧ в незначительных количествах. С увеличением срока эксперимента количество НЧ во всех органах снижается. Кожа в данном эксперименте была взята в качестве контроля – как орган богатый ТК, но фиксации НЧ в этом органе не происходит.

Первыми на введение НЧ реагируют ТК печени. Здесь на 1 сутки происходит снижение их числа, что может быть связано с миграцией ТК в прилежащие ткани. При этом синтетическая и функциональная активности ТК на ранних сроках не изменяются ни в одном из исследуемых органов. В целом можно сказать, что на 1 сутки ТК практически не реагируют на введение НЧ.

На 7 сутки после введения большая часть НЧ выводится из организма, при этом число ТК достоверно изменяется только в печени, где этот показатель возрастает. Однако функциональные показатели изменяются уже в большем количестве органов. В частности, в легких происходит снижение синтетической активности ТК и увеличение функциональной, что может быть связано с влиянием ТК на альвеолярные макрофаги посредством БАВ. ТК сердца показывают противоположные изменения. В печени, так же как и в легких, усиливается функциональная активность ТК.

На 30 сутки число ТК достоверно изменяется в печени, тимусе и коже. В печени и коже снижается, а в тимусе увеличивается. Дегрануляция ТК при этом усиливается в легких, сердце, печени и коже. Это свидетельствует об активации ТК на поздних сроках после введения НЧ.

ТК почек никак не реагируют на введение НЧ на протяжении всего эксперимента.

Выводы. Реакция ТК на введение железоуглеродных НЧ происходит разнонаправлено в различных органах. На ранних сроках после введения НЧ первыми реагируют ТК печени – органа, где в большей степени происходила фиксация наноматериала. На 7 сутки происходит активация ТК легких и сердца. На поздних сроках к вышеперечисленным тучноклеточным популяциям подключаются ТК тимуса и кожи.

#### **Библиографический список**

1. Park J. H., Lee S., Kim J. H., Kwon I. C. Polymeric nanomedicine for cancer therapy // Progress in polymer science. – 2008. – V. 33, № 1. – P. 113–137.
2. Надин К.А. Тучные клетки как фактор развития воспалительных процессов в соединительной ткани // Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2012. – Т. 10, № 1. – С. 22–27.
3. Храпцова Ю. С., Тюменцева Н. В., Юшков Б. Г., Силантьева Е. А., Медведева С. Ю., Бызов И. В., Уймин М. А., Ермаков А. Е. Реакция лимфоидных органов на введение железоуглеродных наночастиц // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 162, № 8. – С. 218–221.

## **ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА АКТИВИРОВАННЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ**

Власова В.В.

*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия*

**Научный руководитель: к.б.н., Сайдакова Е.В.**

Т-лимфоциты, экспрессирующие коактивационную молекулу CD4, играют важную роль в контроле над адаптивным и врожденным иммунным ответом [1,2]. Ключевыми процессами в жизненном цикле CD4<sup>+</sup> Т-клеток являются активация, пролиферация и апоптоз [3]. Несмотря на то, что каждое из явлений подробно изучено, данные о взаимосвязи этих процессов в стимулированных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитах на сегодняшний день недостаточны. Целью настоящей работы было изучение взаимосвязи между процессами активации, пролиферации и апоптоза стимулированных периферических CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов.

Выделенные из периферической крови здоровых доноров мононуклеарные клетки культивировали в течение 3 дней в полной питательной среде с добавлением активирующего агента (магнитные бусы, конъюгированные с анти-CD3 и анти-CD28 антителами). Оценивали относительное и абсолютное количество активированных (CD25<sup>+</sup>), пролиферирующих (Ki-67<sup>+</sup>) и умирающих (Annexin A5<sup>+</sup>PI<sup>+</sup>; PI<sup>+</sup>PO-PRO-1<sup>+</sup>; DiOC(6)3<sup>-</sup>; Caspase-3<sup>+</sup>) CD4<sup>+</sup> Т-клеток. Исследование проводили с использованием проточного цитофлюориметра CytoFLEX. Статистическую обработку результатов выполняли методами непараметрического анализа. Данные представлены в виде медиан. Сравнение величин проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни. Корреляционный анализ выполняли по методу Спирмена. Вычисления проводили с использованием пакетов компьютерных программ Microsoft Office и Stata 11.1.

В пробах со стимулированными мононуклеарными клетками резкий рост процентного содержания активированных элементов среди CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов был отмечен уже в первые сутки культивации. Так через 24 часа после добавления активационных частиц доля

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в среднем составила 75,5 %, в контрольной пробе – 16,3 % (P<0,001). Однако высокий уровень активации сопровождался лишь незначительным увеличением количества пролиферирующих CD4<sup>+</sup> Т-клеток. Напротив, на вторые сутки (48 часов культивации) на фоне высокой (83,7 %) доли активированных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в стимулированных пробах происходило значительное увеличение количества делящихся клеток: 37,7 и 72,0 % (P<0,05) в первые и вторые сутки соответственно. Через 72 часа после начала культивации доля CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-лимфоцитов составила 89,2 %, CD4<sup>+</sup>Ki-67<sup>+</sup> Т-клеток – 76,7 %. Важно отметить, что в стимулированных пробах нами была отмечена высоко достоверная корреляционная зависимость между процентным содержанием CD4<sup>+</sup>Ki-67<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и относительным количеством активированных клеток (R = 0,706; P < 0,001). При этом трёхдневная культивация стимулированных активационными бусами CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов не привела к изменению абсолютного количества клеток в образце.

Исходом активации может быть не только деление, но и смерть CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов [4]. Нами было показано, что абсолютное количество PI<sup>+</sup>PO-PRO-1<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> Т-клеток и их доля среди CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов увеличиваются в течение трех дней культивации со стимулирующим агентом. При этом количество умирающих клеток в стимулированной пробе превышает соответствующее значение нестимулированной культуры лимфоцитов во второй (4,2 и 1,6 % (P < 0,05) соответственно) и третий (4,4 и 2,7 % (P < 0,05) соответственно) дни инкубации. Схожие данные были получены при оценке численности клеток, несущих активную форму каспазы-3. Было установлено, что относительное количество Caspase-3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> клеточных элементов в пробах стимулированных лимфоцитов превышает соответствующие значения контрольных проб в первый (16,3 и 5,7 % (P < 0,05) соответственно) и второй (18,1 и 9,4 % (P < 0,05) соответственно) дни инкубации. Вместе с тем, полученные результаты не были подтверждены при использовании других маркеров апоптоза. Так, значимые отличия между экспериментальной и контрольной пробамии отсутствовали при анализе абсолютного и относительного количества Annexin A5<sup>+</sup>PI<sup>+</sup> (P > 0,05) и DiOC(6)3<sup>-</sup> CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов (P > 0,05). Важно отметить, что экспрессия одного из маркеров апоптоза, а именно Caspase-3, была связана с другими значимыми показателями, отражающими состояние пула CD4<sup>+</sup> Т-клеток. Так, была установлена негативная корреляционная зависимость между долей CD4<sup>+</sup>Caspase-3<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и абсолютным количеством CD4<sup>+</sup> Т-клеток в культуре (R = -0,349; P < 0,02). Кроме того, процентное содержание CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, несущих активированную форму каспазы-3, было ассоциировано с относительным количеством активированных (R = 0,512; P < 0,001) и пролиферирующих клеток (R = 0,624; P < 0,001).

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы:

1. Единовременное исследование активации, пролиферации и апоптоза стимулированных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов можно проводить, детектируя экспрессию CD25, Ki-67 и активной формы каспазы-3.

2. Получение CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитами активационного сигнала через Т-клеточный рецептор приводит к увеличению абсолютного и относительного количества активированных клеток в течение первых 24 часов.

3. Экспрессия маркеров пролиферации индуцируется через двое суток после получения сигнала через Т-клеточный рецептор, однако в течение 72 часов это не приводит к значительному увеличению абсолютного количества CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов.

4. Во временных точках, ассоциированных с увеличением доли клеток, экспрессирующих маркеры активации (24 часа) и пролиферации (48 часов), наблюдается рост абсолютного и относительного числа клеток, умирающих путем апоптоза. При этом значительный рост процентного содержания клеток, характеризующихся нарушением структуры цитоплазматической мембраны, детектируется в стимулированных пробах только на вторые и третьи сутки инкубации.

5. Активация CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов *in vitro* и последующая пролиферация вовлечены в процесс гибели клеток.



### Библиографический список

1. Swain, S. L., McKinstry, K. K., & Strutt, T. M. Expanding roles for CD4+ T cells in immunity to viruses // *Nature Reviews Immunology*. 2012. Vol. 12. № 2. P. 136–148.
2. Hogg, A., Sui, Y., Ben-Sasson, S. Z., Paul, W. E., & Berzofsky, J. A. Role of CD4 T cell helper subsets in immune response and deviation of CD8 T cells in mice // *European Journal of Immunology*. 2017. Vol. 47 № 12. P. 2059–2069.
3. Jenkins, M. K., Khoruts, A., Ingulli, E., Mueller, D. L., McSorley, S. J., Reinhardt, R. L., Pape, K. A. In Vivo Activation of Antigen-Specific CD4 T Cells // *Annual Review of Immunology*. 2001. Vol. 19 № 1. P. 23–45.
4. Hildeman, D. A., Zhu, Y., Mitchell, T. C., Appler, J., Marrack, P. Molecular mechanisms of activated T cell death in vivo // *Current Opinion in Immunology*. 2002. Vol. 14 № 3. P. 354–359.

## РЕЦЕПТОР-ЗАВИСИМЫЕ И НЕЗАВИСИМЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ ЭФФЕКТОВ МЕЛАТОНИНА

Глебездина Н.С.

«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН,  
г. Пермь, Россия.

Эпифизарный гормон мелатонин участвует в координации и синхронизации нейроиммунофизиологических процессов, в том числе циркадных, зрительных, цереброваскулярных, репродуктивных, нейроэндокринных и нейроиммунологических [1]. Плейотропные эффекты этого липофильного индоламина у млекопитающих реализуются через рецептор-зависимые и независимые сигнальные пути: 1. Связывание с рецепторами мелатонина в плазматической мембране. 2. Связывание с орфанными ядерными рецепторами. 3. Связывание с внутриклеточными белками. 4. Антиоксидантный эффект [2].

Непосредственно гормон может взаимодействовать с внутриклеточными белками, такими как кальмодулин (CaM), кальретикулин и тубулин, инактивируя внутриклеточный комплекс-вторичный мессенджер – Ca<sup>2+</sup>/кальмодулин [1, 2].

Также прямое влияние на мишени мелатонин оказывает, выступая в качестве антиоксиданта и поглотителя свободных радикалов: супероксид-анионов, перекиси водорода, гидроксил-радикалов, синглетного кислорода [3]. Гормон эффективно снижает перекисное окисление липидов не только за счет поглощения исходных радикалов, но и в результате действия на молекулы билипидного слоя. Кроме этого, мелатонин способен поглощать пероксинитрильные анионы, уменьшая образование оксида азота и демонстрируя, тем самым, непрямую антиоксидантную активность [3]. Также стоит отметить, что гормон может косвенно участвовать в стимуляции синтеза антиоксидантных ферментов клетки, таких как супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза и в увеличении общего уровня глутатиона [1, 3].

Однако большинство функций реализуются мелатонином через опосредованное соединение с мембранными и ядерными рецепторами [2, 4]. Трансмембранные рецепторы мелатонина – MT1 (Mel1a) и MT2 (Mel1b) широко экспрессируются в центральной нервной системе и в периферических тканях [4]. Существует третий сайт с низким сродством связывания мелатонина на мембране – рецептор MT3, идентифицированный как цитозольный фермент хинонредуктаза 2, с помощью которого, как полагают, гормон участвует в поддержании окислительно-восстановительного статуса клетки [2, 4]. MT1 и MT2 – белки, состоящие из 350 и 362 аминокислот соответственно, с молекулярной массой 39–40 кДа, гомологичные на 60%. Они являются частью суперсемейства рецепторов, связанных с G-белком, и включают 7 $\alpha$  спиральных трансмембранных доменов [4, 5]. Сигнальный путь для рецепторов мелатонина осуществляется через чувствительные и

нечувствительные к коклюшному токсину G-белки. MT1, в основном, связан с субъединицами Gi (Gi $\alpha$ 2, Gi $\alpha$ 3) и Gq (Gq/11), в то время как MT2 – с Gi. Так, активация рецептора мелатонина MT1 через белки Gi ингибирует образование цАМФ, активность протеинкиназы A и фосфорилирование белка, связывающего цАМФ-зависимый элемент (CREB). В некоторых клетках рецепторы MT1 связываются с Gq/11 и активируют фосфолипазу C, которая, в свою очередь, может повышать уровни кальция и запускать передачу сигналов кальмодулином, CaM-киназами и кальретикулином. MT1 увеличивает проводимость калия путем активации связанного с Gi-белком калиевого канала Kir3 посредством передачи сигналов  $\beta\gamma$ -комплекса, который ингибирует определенные изоформы аденилатциклазы и активирует фосфолипазу C. К тому же, через высвобождение  $\beta\gamma$ -димера, образующегося при диссоциации белка Gi (на  $\alpha$ - и  $\beta\gamma$ -субъединицы), MT1 потенцирует простагландин-F2a, увеличивает фосфорилирование киназ MEK 1/2, ERK 1/2 и гидролиз фосфоинозиотида. Активация рецепторов мелатонина MT2 также может привести к ингибированию образования цАМФ и цГМФ и увеличению гидролиза фосфоинозитидов. Кроме того, в клетках, экспрессирующих рецепторы MT1 и MT2, мелатонин индуцирует N-терминальную киназу c-Jun через белки, чувствительные к коклюшному токсину (Gi) и нечувствительные (Gs, Gz – для MT1; G16 – для MT1 и MT2). В супрахизматическом ядре мелатонин через MT2 увеличивает активность протеинкиназы C [4, 5].

На мембране существует еще один сайт связывания мелатонина - GPR50 - ортолог Mella, являющийся членом семейства G-белковых рецепторов интегральных мембранных белков. Идентичность по аминокислотной последовательности с MT1 и MT2 составляет 45%. GPR50 имеет очень низкое сродство к мелатонину, однако, при димеризации с MT1/MT2 он ингибирует сигнал мелатонина [4].

Меньшим сродством (на 2-3 порядка) к мелатонину, по сравнению с мембранными рецепторами, обладают ядерные рецепторы RZR /ROR – транскрипционные факторы, принадлежащие к семейству связанных с ретиноевой кислотой орфанных рецепторов. К подсемействам, связывающим мелатонин, относят RZR $\alpha$ , ROR $\alpha$ , ROR $\alpha$ 2 и RZR $\beta$ . Они имеют доменную организацию: за присоединение лиганда и димеризацию рецепторов отвечает C-концевой домен. Однако встречаются рецепторы, имеющие мономерное строение. Эти факторы в ядре регулируют транскрипцию путем связывания в качестве мономера с регионом RORE (короткая последовательность ДНК) в промоторной области генов-мишеней. Ядерные рецепторы ответственны за проявление гормоном иммуномодулирующих функций посредством усиления образования интерлейкинов,  $\gamma$ -интерферона T-лимфоцитами, а также антипролиферативных эффектов. ROR-связывающие сайты находятся в регуляторных областях многих генов [2, 5].

Важно, что все специфические рецепторы и дополнительные внутриклеточные мишени мелатонина имеют разное сродство к нему и могут запускать множественные сигнальные механизмы с соответствующим результатом, эффективность которого часто зависит и от концентрации гормона [1-5].

*Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: 01201353248.*

#### **Библиографический список:**

1. Mahmood D. Pleiotropic effects of melatonin // Drug Res (Stuttg). 2019. V. 69 (02). P. 65-74.
2. A review of melatonin, its receptors and drugs / Emet M., Ozcan H., Ozel L. et al. // Eurasian J Med. 2016. V. 48 (2). P. 135–141.
3. Беспярых А.Ю., Бурлакова О.В., Голиченков В.А. Мелатонин как антиоксидант: основные функции и свойства // Успехи современной биологии. 2010. Т. 130, № 5. С. 487–496.

4. International union of basic and clinical pharmacology. LXXV. Nomenclature, classification, and pharmacology of G protein-coupled melatonin receptors / Dubocovich M.L., Delagrangre P., Krause D.N. et al. // Pharmacol Rev. 2010. V. 62 (3). P. 343–380.

5. Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways / Seithikurippu R. Pandi-Perumal S.R., Trakht I., Srinivasan V. et al. // Progress in Neurobiology. 2008. V. 85. P. 335–353.

## **ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ ВИДОВ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК НА ЛИМФОИДНЫЕ ОРГАНЫ КРЫС НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТА МИЛДРОНАТ**

Житкова В.С.

*ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия*

*ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии УрО РАН», г. Екатеринбург, Россия*

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Храмцова Ю.С.**

Физические упражнения влияют на функционирование иммунной системы. Общеизвестно, что иммунный ответ напрямую зависит от интенсивности и продолжительности тренировки [3]. Однако, влияние физической нагрузки на структуру лимфоидных органов, а также коррекция их возможных изменений с помощью препарата Милдронат не изучены.

Целью работы было изучение влияния умеренной (УФН) и чрезмерной (ЧФН) физической нагрузки на структуру селезенки и тимуса у крыс на фоне введения препарата «Милдронат».

Материалы и методы. Эксперимент был проведен на 25 самцах крыс половозрелого возраста, разделенных на 5 групп: интактные животные (n=5); животные с умеренной (УФН) (n=5) или чрезмерной физической нагрузкой (ЧФН) (n=5) и животные, которые подвергались УФН (n=5) или ЧФН (n=5) на фоне введения препарата.

Препарат Милдронат вводили внутримышечно перед тренировкой, дозировка составляла 10мг/кг. Длительность эксперимента составляла 4 недели. УФН заключалась в ежедневном плавании самцов в течение 2 ч в специальном бассейне. ЧФН состояла в том, что к хвосту прикреплялся груз весом 20% от массы тела и крыса плавала по схеме: 1 минута плавание, 3 минуты отдых – 5 кругов [2]. Для оценки морфометрических показателей было проведено *гистологическое* исследование лимфоидных органов. *Оценку морфометрических показателей селезенки и тимуса проводили по нескольким показателям с помощью программы автоматического анализа визуальных данных «ImageJ»* [1]. Анализ периферической крови выполнялся на гематологическом анализаторе «Celly 70 Biocodex Nucle». Статистическую обработку данных проводили с использованием программы статистики («Statistika 7»). Сравнение групп выполняли с использованием непараметрических критериев Манна-Уитни и Уилкоксона. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

Результаты исследования позволили заключить, что при УФН препарат восстанавливает показатели крови до значений близких к интактным, нивелируя стрессовое воздействие физической нагрузки. В селезенке нормализуется соотношение площади красной и белой пульпы, при этом повышается герминативно-фолликулярный индекс, что свидетельствует о смещении иммунного ответа в сторону гуморального типа. В тимусе под действием препарата увеличивается толщина капсулы и площадь мозгового вещества, относительно коркового, как следствие происходит активация иммунных процессов.

Действие препарата «Милдронат» при ЧФН снижает стрессовое влияние нагрузки на организм, что подтверждается уменьшением количества гранулоцитов в периферической крови относительно группы животных ЧФН без препарата. В лимфоидных органах при ЧФН происходят существенные структурные изменения, которые не корректируются при помощи препарата. Так, в селезенке не восстанавливается соотношение белой и красной пульпы, а в тимусе значительно растет площадь мозгового вещества относительно коркового.

Исходя из этого, мы можем утверждать, что препарат нивелирует структурные изменения в лимфоидных органах, вызванные УФН. Однако при ЧФН такого эффекта не наблюдается.

#### **Библиографический список**

1. Волков В.П. Новый алгоритм морфометрической оценки функциональной иммуноморфологии селезенки / В. П. Волков // *Universum медицина и фармакология* – 2015. – № 5–6.

2. Краснова А.Ф. Уровень мочевой кислоты в крови как показатель реакции на физические нагрузки / А. Ф. Краснова, Г. И. Самоданова, С. В. Усик, Н. Н. Яковлев // *Физиологический журнал СССР им. И.М.Сеченова* – 1978. – Т. 4 – № 538–542.

3. Sellami M. Effects of acute and chronic exercise on immunological parameters in the elderly aged: Can physical activity counteract the effects of aging? / M. Sellami, M. Gasmi, J. Denham, L. D. Hayes, D. Stratton, J. Padulo, N. Bragazzi // *Front. Immunol.* – 2018. – Т. 9 – № OCT – 1–17с.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕВОЙ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА НА ПОЛИУРЕТАНОВЫЙ ИМПЛАНТАТ, МОДИФИЦИРОВАННЫЙ ИОННО-ПЛАЗМЕННЫМ МЕТОДОМ**

Иванов Я.Н.<sup>2</sup>, Чудинов В.С.<sup>1,2</sup>, Шардаков И.Н.<sup>1</sup>, Чудинова Е.Ю.<sup>2</sup>,  
Кондюрин А.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*ФГБУН Институт механики сплошных сред УрО РАН, г. Пермь, Россия*

<sup>2</sup>*ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*

<sup>3</sup>*Школа физики, Университет Сиднея, Сидней, Австралия*

Полимеры относятся к классу универсальных материалов и широко используются в здравоохранении. Благодаря широкому спектру механических свойств, полиуретан занимает особое место в медицинской практике. Он зарекомендовал себя как доступное и эффективное решение при протезировании. Хотя в целом биосовместимость полиуретанов является удовлетворительной, при протезировании не удастся избежать реакции на инородное тело. Таким образом, улучшение биосовместимости этих биоматериалов имеет очевидный практический интерес.

Стоит отметить, что полная биосовместимость является задачей невыполнимой. Однако, разработаны методы, которые позволяют существенно снизить отторжение имплантата организмом.

Ранее был предложен метод ионно-плазменной обработки, который позволяет создать гидрофильный углеродный нанослой. Высокая активность поверхности способствует адсорбции белка с химической пришивкой к ней. Гидрофильность, в свою очередь, обеспечивает сохранение биологических функций белка [1].

Цель работы – исследовать тканевую реакцию организма на полиуретановый имплантат, модифицированный методом ионно-плазменной обработки.

Полиуретан был получен синтезом форполимера на основе простого олигоэфира и 2,4-толуиленидиизоцианата отвержденного смесью отвердителей МОКА (13,2%), полифурита (84,7%) и Воранола (Лапромола) RA640 (2,1%).

Поверхность синтезированного полиуретана была модифицирована ионно-плазменным методом с разным временем обработки: 40, 80, 400 и 800 сек. Для каждого времени обработки рассчитан флюенс ионов и составлял соответственно  $5 \cdot 10^{14}$ ,  $10^{15}$ ,  $5 \cdot 10^{15}$  и  $10^{16}$  ион/см<sup>2</sup>. Энергия ионов азота бомбардирующих поверхность полимера достигала 20 кэВ.

Для исследования использовались крысы- самцы (n=3), возрастом три месяца.

Для эксперимента были подготовлены полиуретановые имплантаты в виде плоских окружностей размером 8 мм в диаметре и толщиной до 0,5 мм. В каждое животное имплантировались образцы полиуретана (n=5) с разным временем обработки, включая контрольный необработанный. Срок экспозиции имплантатов в животном до их эвтаназии составлял 1 месяц. Образцы имплантировались в различные места (карманы), расстояние между которыми было 5-6 мм. При сшивании раны, на каждый карман накладывался один шов Викрила 4/0. После эвтаназии животных образцы были вырезаны вместе с тканями (примерно 3,5 мм тканей вокруг имплантата). По результатам мониторинга за животными установлено, что полиуретановые имплантаты не повлияли на их общее состояние. Далее применялся метод окраски гематоксилином и эозином гистологических срезов [2]. Микроскопически было выполнено полное исследование соединительно-тканной оболочки. Проведен подсчет в 5 полях зрения количества эозинофилов и нейтрофилов и качественно отмечено наличие других клеток соединительной ткани. Морфологическая картина вокруг необработанных полиуретанов характеризуется высокой клеточностью. Встречаются клетки инородных тел, тучные клетки, макрофаги, скопления лимфоцитов и плазмоцитов. Количество эозинофилов 2-3 в поле зрения и нейтрофилов 1-2 в поле зрения. При гистологическом исследовании тканей вокруг обработанных имплантатов, клеточность значительно ниже. Количество эозинофилов и нейтрофилов 0-0-1 в поле зрения. Это говорит о менее выраженной воспалительно-аллергической реакции для опытных образцов по сравнению с контрольными [3]. Тем не менее и в контрольных образцах сформировалась соединительно-тканная капсула с умеренно-выраженным воспалительно-аллергическим эффектом, что говорит об удовлетворительной биосовместимости полиуретана. В зависимости от времени плазменной обработки результаты, полученные при подсчете эозинофилов и нейтрофилов на поле зрения, практически не отличаются. Однако при непродолжительной обработке имплантата (40 с, 80 с) образованная вокруг него соединительно-тканная капсула содержит больше волокнистых элементов, чем клеток. Такое соотношение волокнистых элементов и клеток наблюдается у более зрелой соединительно-тканной капсулы [3].

Таким образом, имплантаты подверженные ионно-плазменной обработке приживаются в организме с уменьшенной реакцией на инородное тело, чем необработанные. Однако нельзя говорить о преимуществе какого-то определенного режима обработки вследствие того, что данные полученные в ходе эксперимента не исчерпывающие.

Требуются более углубленные исследования для поиска оптимальных параметров ионно-плазменной обработки.

#### **Библиографический список**

1. Полиуретан для медицинского применения, модифицированный плазменно-ионной обработкой / В.С. Чудинов [и др.] // Биофизика. 2018. Т. 63. № 3. С. 444-454.
2. Hematoxylin and Eosin Staining of Tissue and Cell Sections /A.H. Fischer [et al] // Cold Spring Harbor Protocols. 2008. № 5. doi: 10.1101/pdb.prot4986.
3. Биосовместимые материалы / под ред. В.И. Севастьянова. Москва, 2011. 544 с.

# ВЛИЯНИЕ ЭНДОМОРФИНА 1 И 2 НА КИСЛОРОДЗАВИСИМУЮ МИКРОБИЦИДНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Кадочникова Я.А.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
г. Пермь, Россия

**Научный руководитель:** зам. директора ИЭГМ УрО РАН по научной работе, д.м.н., профессор Гейн С.В.

Эндогенная опиоидная система проявляет чрезвычайно широкий спектр биологической активности, представляя собой одну из важнейших систем регуляции гомеостаза. Её компоненты, способные действовать как нейромедиаторы, гормоны или модуляторы многих физиологических функций, обнаружены в различных тканях – в нервной системе, надпочечниках, пищеварительном тракте, а также в иммунокомпетентных клетках [1]. Эндогенные опиоидные пептиды регулируют функции нервной системы, процессы пищеварения, репродукции, лактации, стресс реакции, иммунорегуляции и других, а также вовлекаются в развитие и патогенез целого ряда неврологических и аутоиммунных расстройств [2]. Эндоморфины – это эндогенные пептиды с опиоидной активностью, подобно морфину, связывающиеся с  $\mu$ -опиоидным рецептором [3].

Цель настоящей работы – исследовать влияние эндогенных опиоидных пептидов эндоморфина 1 и эндоморфина 2 на продукцию активных форм кислорода фракцией лейкоцитов периферической крови.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовались лейкоциты периферической венозной крови здоровых добровольцев в возрасте от 22 до 40 лет. Для получения фракции лейкоцитов гепаринизированную венозную кровь отстаивали в течение 2 ч в термостате при 37°C. Верхний слой плазмы с лейкоцитами снимали и центрифугировали при 1500 об/мин в течение 20 мин. Полученный осадок ресуспендировали в 1 мл раствора Хенкса. Оценку кислородзависимой микробицидной активности лейкоцитов осуществляли с использованием реакции люминолзависимой хемилюминесценции (ЛХЗЛ). Реакцию проводили в 96 луночных плоскодонных планшетах (“Greiner”, Германия), каждая лунка содержала  $10^5$  клеток в 100 мкл раствора Хенкса. В качестве индуктора ЛХЗЛ использовали опсонизированный зимозан. Эндоморфины 1 и 2 использовали в концентрациях  $10^{-6}, 10^{-8}, 10^{-10}, 10^{-12}$  М. В качестве маркера выраженности реакции ЛХЗЛ использовался люминол ( $10^{-5}$ М), свечение которого неизбирательно по отношению к различным кислородсодержащим радикалам. Регистрация результатов проводилась в течение часа с помощью многофункционального спектрофотометра TECAN (Австрия). Статистический анализ проводили с использованием непарного  $t$ -критерия Стьюдента.

Установлено, что внесение в культуры эндоморфина 1 в концентрациях  $10^{-8}, 10^{-10}, 10^{-12}$  М в течение первых 30 мин наблюдений существенно снижало образование АФК по сравнению с контролем. Эндоморфин 1 в концентрации  $10^{-6}$  М статистически значимого влияния на спонтанную продукцию АФК не оказывал. Внесение в культуры эндоморфина 2 приводило к снижению спонтанной продукции АФК во всем диапазоне используемых концентраций. Стимулированная зимозаном продукция АФК под влиянием эндоморфинов статистически значимо не изменялась. Таким образом, *in vitro* эндоморфины снижали спонтанную секрецию АФК и не влияли на индуцированную зимозаном продукцию активных форм кислорода. Полученные в ходе работы данные указывают на важную роль опиоидных пептидов в процессе регуляции кислородзависимой системы бактерицидности лейкоцитов.

### Библиографический список

1. Влияние опиоидных пептидов на кислородзависимую микробицидность нейтрофилов периферической крови / С.В. Гейн, К.Г. Горшкова // Физиология человека. 2012. Т.38, №3. С.100-106.
2. Эндогенные опиоидные пептиды в регуляции функций клеток врожденного иммунитета / С.В. Гейн, Т.А. Баева // Биохимия. 2011. Т 76, №3. С.379-390.
3. Immunomodulatory effects of endogenous and synthetic peptides activating opioid receptors / Dorota K. Pomorska, Katarzyna Gach, Anna Janecka // 2014. №14. С.1148-55.

## СИНТЕЗ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ РЕАГЕНТОВ НА ОСНОВЕ АЛЬБУМИНОВЫХ НАНОЧАСТИЦ

Калашникова Т.В., Баркина И.А., Кропанева М.Д., Храмцов П.В.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

**Научный руководитель: д.б.н., профессор Раев М.Б.**

В настоящее время различные наночастицы широко применяются как носители распознающих и сигнальных молекул в тест-системах для повышения чувствительности существующих анализов и для разработки новых методов *in vitro* диагностики. Целью настоящей работы являлась оптимизация синтеза наночастиц из бычьего сывороточного альбумина разного размера и их функционализация пероксидазой хрена.

Синтез наночастиц производили методом десольватации [1, 2], который заключается в снижении растворимости белка посредством добавления этанола и последующей перекрестной сшивки глутаровым альдегидом. Общая процедура синтеза наночастиц выглядит следующим образом: готовили раствор БСА в концентрации 50 мг/мл в деионизированной воде, рН раствора доводили до 9 при помощи 1М NaOH. Далее к раствору белка добавляли раствор 96% этилового спирта в объеме 4 мл на 1 мл раствора белка с помощью перистальтического насоса (скорость подачи 1 мл/мин), добавление этанола производили при перемешивании на магнитной мешалке (1400 об/мин), поддерживая температуру реакционной среды равной +35°C на протяжении всей процедуры синтеза. Спустя 5 минут после окончания добавления этанола в суспензию вносили 325 мкл 8% глутарового альдегида, разведенного в воде, в качестве сшивающего агента. Суспензию перемешивали при описанных условиях в течение 60 мин. Затем наночастицы отмывали от этанола и глутаральдегида фосфатным буфером при помощи трехкратного центрифугирования (первое — 30 мин, второе и третье — по 10 мин) при 20000g. После каждого центрифугирования осадок ресуспендировали при помощи ультразвука. По окончании отмывки объем частиц доводили до исходного и использовали частицы для конъюгирования с пероксидазой хрена. При соблюдении данной методики нами были получены наночастицы размерами 110-120 нм. Для синтеза более больших частиц была использована эта же процедура, с измененной скоростью подачи этанола (4 мл/мин) [2]. В результате нами были получены наночастицы размером 140-150 нм.

Синтезированные наночастицы конъюгировали с пероксидазой хрена, для этого к суспензии наночастиц добавляли растворы, содержащие пероксидазу хрена в разных концентрациях (1 мг/мл, 0,1 мг/мл, 0,01 мг/мл, 0,001 мг/мл). После отмывки раствора от пероксидазы, не связанной с частицами, подтверждали наличие пероксидазы на частицах путем добавления хромогенного субстрата ТМБ с перекисью водорода.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-015-00408 А.*

### Библиографический список

1. Jahanban-Esfahlan A., Dastmalchi S., Davaran S. A simple improved desolvation method for the rapid preparation of albumin nanoparticles // International Journal of Biological Macromolecules. 2016. Vol. 91. P. 703-709.

2. Galisteo-González F., Molina-Bolívar J.A. Systematic study on the preparation of BSA nanoparticles // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2014. Vol. 123. P. 286-292.

## ИММУНОРЕГУЛЯТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО V1 – ГЛИКОПРОТЕИНА НА СУБПОПУЛЯЦИЮ Т-ХЕЛПЕРОВ 17.

Калугина А.П.,<sup>1</sup> Заморина С.А.<sup>1,2</sup>, Тимганова В.П.<sup>2</sup>, Бочкова М.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

В период беременности в организме женщины происходит аллоиммунизация эмбриональными антигенами. Как следствие, у матери формируется иммунная толерантность к фетоплацентарным антигенам. Особую роль в этом процессе играют белки, ассоциированные с беременностью, в том числе трофобластический  $\beta 1$ -гликопротеин (ТБГ). ТБГ является гликопротеином (21-32% углеводов) с Мг 37-49 кДа. Увеличение количества ТБГ в сыворотке крови наблюдается на ранних сроках беременности, максимальная концентрация достигается к 36 неделе (до 400 мкг/мл), после родов его концентрация резко снижается. ТБГ продуцируется клетками цитотрофобласта и синцитиотрофобласта. Он способен влиять как на врожденный, так и на адаптивный иммунитет. Так, известно, что ТБГ угнетает продукцию провоспалительного цитокина ИЛ-6 [1] и индуцирует синтез противовоспалительных цитокинов [2]. Несмотря на то, что иммуносупрессивные эффекты ТБГ хорошо известны, его роль в регуляции провоспалительной субпопуляции ИЛ-17-продуцирующих Т-хелперов (Th17) изучена недостаточно [3].

Целью работы являлась оценка влияния ТБГ на поляризацию Т-хелперов в фенотип Th17 в зависимости от пролиферативного статуса клеток.

Материалы и методы: На исследование получено разрешение этического комитета «ИЭГМ УрО РАН» (IRB00010009) от 12.06.2016. Объектом исследования служила периферическая кровь здоровых доноров-добровольцев. CD4<sup>+</sup> клетки выделяли иммуномагнитной сепарацией, после чего их культивировали в полной питательной среде (ППС) в 96-луночных планшетах (концентрация 10<sup>6</sup> клеток/мл) в течение 48 ч при температуре 37<sup>0</sup>С и 5% содержании СО<sub>2</sub>. Для поляризации лимфоцитов в фенотип Th17 в культуры вносили рекомбинантные цитокины ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 (по 10 нг/мл, реактивы «Miltenyi Biotec», Германия) и TCR-активатор. В работе использовались физиологические концентрации нативного ТБГ (1, 10, 100 мкг/мл), полученного по авторской методике [4]. После 48 часов инкубации оценивали процент Th17 в культуре при помощи цитометрической детекции CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов, экспрессирующего транскрипционный фактор ROR- $\gamma$ t (Anti ROR $\gamma$ t-PE, «Miltenyi Biotec», Германия). Одновременно с этим определяли маркер пролиферации Ki-67 (anti-Ki-67 PerCP-Vio700 «Miltenyi Biotec», Германия). Измерения проводили на проточном цитометре «CytoFLEX S» («Beckman Coulter», США).

Результаты и обсуждение: При изучении влияния ТБГ на дифференцировку Th17 установлено, что ТБГ в концентрации, соответствующей последнему триместру беременности (100 мкг/мл), подавляет количество CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов, экспрессирующих



транскрипционный фактор ROR- $\gamma$ t. Далее был проведен анализ влияния ТБГ на экспрессию ROR- $\gamma$ t в зависимости от пролиферативного статуса клеток. Показано, что ТБГ в концентрациях 10 и 100 мкг/мл достоверно подавлял количество пролиферирующих Th17-клеток (ROR- $\gamma$ t<sup>+</sup>Ki-67<sup>+</sup>) в культуре. Таким образом, ТБГ в условиях направленной индукции Т-хелперов в фенотип Th17 при помощи провоспалительных цитокинов и TCR-активатора регулирует пролиферацию и дифференцировку Th17, оказывая, прежде всего, угнетающий эффект.

#### **Библиографический список**

1. Martinez F.F., Cervi L., Knubel C.P., Panzetta-Dutari G.M., Motran C.C. // Am. J. Reprod. Immunol. 2013; V.69. 383–394.
2. Snyder S.K.; Wessner D.H.; Wessells J.L.; Waterhouse R.M., Wahl L.M.; Zimmerman W.; Dveksler G.S. // Am. J. Reprod. Immunol. 2001; V.45. 205–216.
3. Заморина, С.А., Раев М.Б., Трофобластический бета-1-гликопротеин человека как фактор дифференцировки минорных регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов (TREG, TH17). Роль молекул CD9. // Биологические мембраны. 2016. №4. 278-286
4. Раев М.Б. Способ выделения и очистки трофобластического  $\beta$ 1-гликопротеина. Патент РФ №2367449 // Бюл. 2009. № 26.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННОГО АУТОТРАНСПЛАНТАТА ДЛЯ УСКОРЕННОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ**

Карпенко В.Н., Усачёв В.А.

*ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург,  
Россия*

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Арташян О.С.**

Костные дефекты, образовавшиеся после оперативных вмешательств или травм, требуют применения полноценных пластических материалов. Поэтому проблема быстрого создания трансплантатов для восстановления целостности и функции костной ткани и опережения спонтанной естественной репарации, образование которого не сопровождается патологическими осложнениями, является актуальной, а используемый метод – перспективным [1]. Ранее было показано, что применение фиброзного аутооттрансплантата на модели повреждения нижней челюсти ускоряло заживление травмы. Однако не было учтено время формирования аутопротеза, которое может задержать время восстановления [2].

В эксперименте участвовало 15 самцов черных беспородных крыс, 6-месячного возраста. Животные были разбиты на 3 группы по 5 особей: две контрольные и одна опытная. Костный дефект всем группам создавали под эфирным наркозом путём просверливания круглого отверстия диаметром 3,5 мм в углу нижней челюсти. Первая контрольная группа выводилась из эксперимента через неделю после операции (для оценки динамики процесса регенерации), вторая – через 2 недели. Опытной группе во время операции по созданию дефекта подсаживалась трубка-основа из миллипорового фильтра под кожу. Для наращивания трансплантата на этой основе отводилась 1 неделя, после чего сформированная соединительнотканная капсула (основу предварительно извлекали) подсаживалась животным опытной группы в область дефекта челюсти, и еще через 1 неделю животных выводили из эксперимента. У групп «2 недели опыт» и «2 недели контроль» производился забор крови для проведения биохимического анализа на кальций, неорганический фосфор и щелочную фосфатазу. Гистологические препараты нижней челюсти окрашивали по Ван-Гизону и проводили замеры костных и хрящевых мозолей в зоне дефекта с целью определения скорости заживления. Статистическую обработку результатов

осуществляли в программе STATISTICA непараметрическим критерием Краскела — Уоллиса.

Результаты и обсуждения.

Через 1 неделю у животных первой контрольной группы после создания дефекта полость раны заполнена костными отломками и мышцами, выявляются признаки кровоизлияния. По периферии раны наблюдается образование костной ткани (рис. 1А). Спустя 2 недели во второй контрольной группе зона дефекта замещена поперечнополосатой мышечной тканью с небольшим количеством рыхлой соединительной ткани в окружении кольца молодой кости (рис. 1А).

В опытной группе через 2 недели аутотрансплантат заполнил зону дефекта, вследствие чего наблюдается визуальное снижение мышечного компонента в области регенерации по сравнению со второй контрольной группой. При этом отмечается возрастание площади костных мозолей (рис. 1А), а также дополнительно возникновение очагов остеогенеза в центре дефекта (помимо костеобразования по периферии). Происходит постепенная резорбция костных отломков, образующихся в результате травмы (сверление). Значимых отличий в площади хрящевых мозолей нет (рис. 1Б).

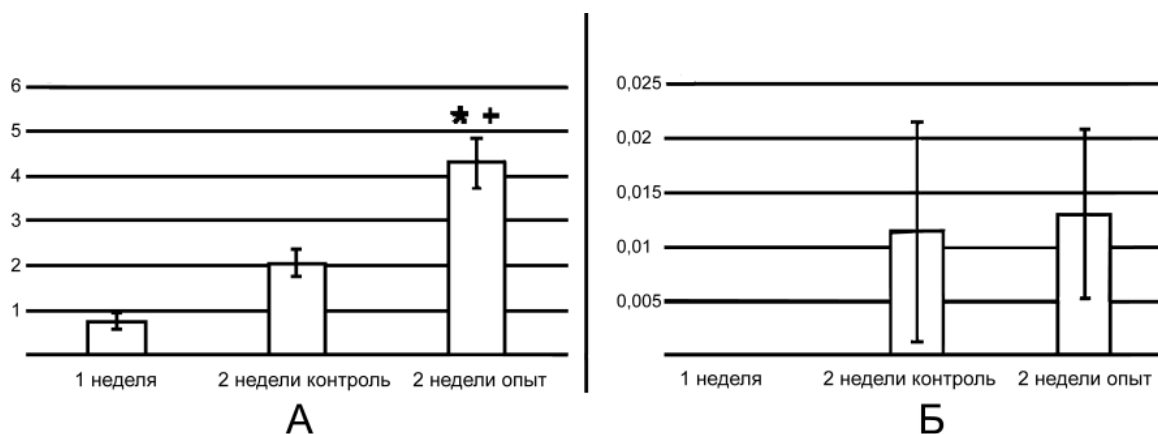


Рис. 1. Результаты морфометрических измерений.

А – площадь костной ткани, Б – площадь хрящевых мозолей (мм<sup>2</sup>)

«+» - отличие от группы «1 неделя», значимо при  $p < 0.05$

«\*» - отличие от группы «2 недели контроль», значимо при  $p < 0.05$

По результатам биохимического анализа не было выявлено значимых различий в содержании кальция в сыворотке крови ни в одной экспериментальной группе (рис. 2А). Однако отмечается возрастание концентрации фосфора (рис. 2А) и снижение активности щелочной фосфатазы в контрольной группе через две недели по сравнению с интактными животными (рис. 2Б), что указывает на протекающие в костной ткани процессы резорбции. В опытной группе с аутотрансплантатом наблюдается нормализация уровня фосфора (рис. 2А), что указывает, наряду с увеличением площади молодой кости на гистологических препаратах, на завершение стадии резорбции [3].

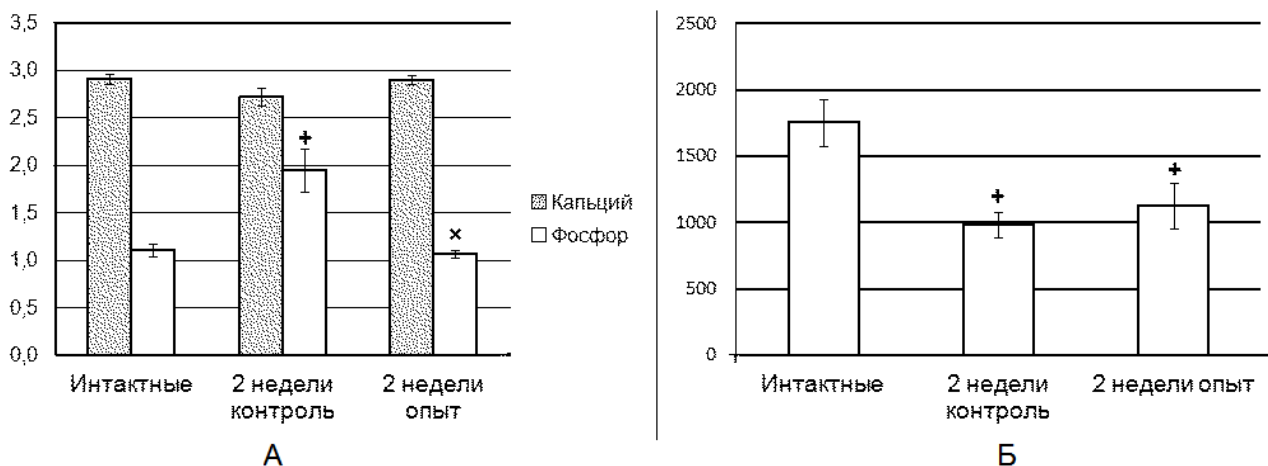


Рис.2. Результаты биохимического анализа.

А - содержание кальция и фосфора в сыворотке крови (ммоль/л)

Б - активность щелочной фосфатазы (нмоль/сек\*л)

«+» - отличие от группы «интактные», значимо при  $p < 0.05$

«x» - отличие от группы «2 недели контроль», значимо при  $p < 0.05$

Таким образом, было показано, что соединительнотканый аутотрансплантат ускоряет заживление костной ткани на модели дефекта нижней челюсти, формируя первичную (соединительнотканную) мозоль.

### Библиографический список

1. Майбородин И.В. Фибриновые технологии в ускорении регенерации поврежденной кости в эксперименте / Майбородин И.В., Шеплев Б.В., Дровосеков М.Н., Колесников И.С., Тодер М.С., Шевела А.А. // Экспериментальные и клинические исследования. – 2012. – Т. 11. – №. 4. - С. 49–56.
2. Усачев В.А. Применение фиброзного аутотрансплантата в посттравматической костной регенерации нижней челюсти / Усачев В.А., Арташян О.С., Котомцев В.В., Сенькин Г.С., Солосина Д.А // Acta Biomedica Scientifica. - 2019. - №4(1). - С. 162-165.
3. Кондурцев В. А., Чеснокова И. Г., Корытцева С. А. Биохимические и обменные процессы при травматической болезни // Вестник хирургии им. И. И. Грекова – 1995. - № 3 – С. 46-54.

## ЛУПАНОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ БЕТУЛИНА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ АГЕНТЫ

Конышева А.В., Ерошенко Д.В., Гришко В.В.

*«Институт технической химии УрО РАН» – филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь, Россия*

На основе известного природного метаболита бетулина, активно продуцируемого представителями вида *Betula* [1], проведен разноплановый синтез новых тритерпеновых производных с 2,3-фрагментированным или пятичленным кольцом А. Цитотоксические свойства синтезированных соединений исследованы в отношении опухолевых клеток карциномы гортани (HEp-2), колоректальной карциномы (HCT116), меланомы (MS), рабдомиосаркомы (RD TE32), аденокарциномы молочной железы (MCF-7) и немелкоклеточной карциномы легкого (A549) человека. В результате биоскрининга среди

полусинтетических тритерпеноидов в качестве перспективных противоопухолевых агентов отобраны (рис. 1, 2) лупановые 3-алкил-3-кетоны **2**, **6**, бромзамещенные 3-алкил-3-кетоны **4**, **8** и  $\alpha,\beta$ -алкеннитрилы с пятичленным циклом А **3**, **7**, синтезированные из 3-метил-3-кетона **1** и 3-этил-3-кетона **5** и содержащие в своей структуре С(30) альдегидный фрагмент [2-4].

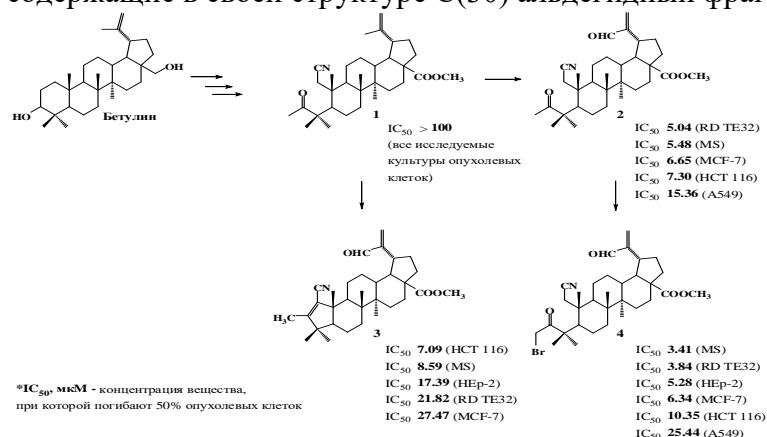


Рисунок 1. Синтез и цитотоксические свойства лупановых 3-метилзамещенных тритерпеноидов

Как видно из представленных на рисунках 1, 2 данных, введение альдегидной группы в С(30) положение изопропилиденового блока, а также атома брома в секокольцо А или фрагмента алкеннитрила в пятичленный цикл А позволило повысить уровень противоопухолевых свойств исходных неактивных тритерпеноидов **1** и **5** ~ в 20-80 раз.

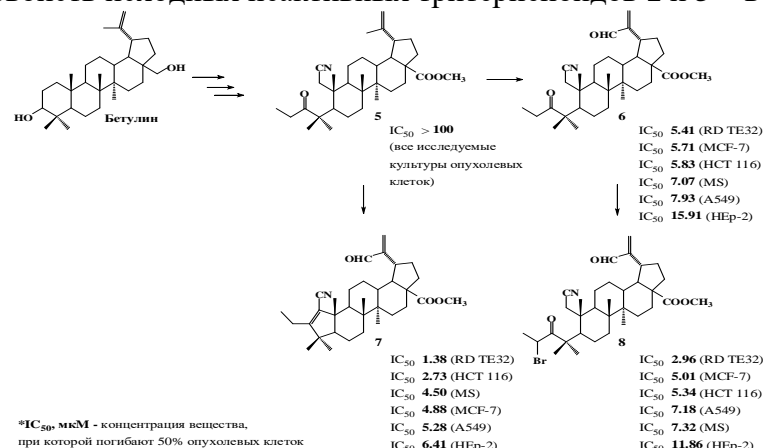


Рисунок 2. Синтез и цитотоксические свойства лупановых 3-этилзамещенных тритерпеноидов

### Библиографический список

1. Krasutsky, P.A. Birch bark research and development / P.A. Krasutsky // Nat. Prod. Rep. – 2006. – V. 23. – P. 919–942.
2. Konysheva, A.V. Synthesis of cytotoxically active derivatives based on alkylated 2,3-seco-triterpenoids / A.V. Konysheva, V.O. Nebogatikov, I.A. Tolmacheva, M.V. Dmitriev, V.V. Grishko // Eur. J. Med. Chem. – 2017. – V. 140. – P. 74-83.
3. Конышева, А.В. Метилловые эфиры 3-метил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой и 3-бромметил-3-оксо-1-циано-2,3-секо-2-норлуп-20(29)-ен-30-аль-28-овой кислот, проявляющие цитотоксическую активность / А.В. Конышева, В.О. Небогатиков, И.А. Толмачева, В.В. Гришко, Е.Ю. Рыбалкина, А.Ф. Карамышева, Патент РФ № 2632002 от 2.10.2017.
4. Konysheva, A.V. Synthesis, cyclization, and cytotoxic activity of 2,3-secolupane triterpenoids with ethylketone fragment / A.V. Konysheva, D.V. Eroshenko, V.V. Grishko // Nat. Prod. Commun. – 2019. – in press.

# РОЛЬ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО b1-ГЛИКОПРОТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ ПЕРЕХОДА НАИВНЫХ Т-КЛЕТОК В ЭФФЕКТОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ ИММУННОЙ ПАМЯТИ

Кочурова С.В.<sup>1</sup>, Тимганова В.П.<sup>2</sup>, Бочкова М.С.<sup>2</sup>, Заморина С.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

Трофобластический b1-гликопротеин (ТБГ) является ключевым маркером функционирования фетоплацентарной системы и доминантным белком во II-III триместрах беременности. Он играет важную роль в становлении иммунной толерантности при формировании Т-клеток памяти к фетоплацентарным антигенам. Известно, что супрессивные эффекты ТБГ на Т-клетки памяти реализуются только на уровне Т-хелперов (CD4+), не затрагивая субпопуляцию CD8+ [Раев и соавт., 2017]. Поэтому цель работы - оценка роли ТБГ в регуляции перехода наивных Т-клеток в эффекторные Т-клетки на уровне Т-хелперов в системе *in vitro*.

Материалы и методы. Нативный ТБГ человека получали авторским методом [Патент РФ № 2367449, Раев М.Б.]. Монокультуры Т-хелперов получали методом иммуномагнитной сепарации с использованием технологии MACS® («Miltenyi Biotec») из суспензии моноклеарных клеток периферической крови здоровых доноров (n=8). Выделенные клетки с фенотипом CD4+ (1×10<sup>6</sup>кл/мл) культивировали в 96-луночных планшетах в полной питательной среде в течение 48 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. В качестве активатора использовали анти-CD2/CD3/CD28 частицы («Miltenyi Biotec»), также, вносили ИЛ-2 (10 нг/мл). Определение поверхностных молекул, характеризующих наивные Т-клетки (CD45RA+CD45RO-CD62L+), Т-эффекторы (CD45RA+CD45RO-CD62L-), эффекторные Т-клетки памяти (CD45RA-CD45RO+CD62L-) на CD4+ Т-клетках проводили на проточном цитометре «CytoFLEX S» («Beckman Coulter»). Статистическая обработка данных проводилась с помощью парного t-критерия Стьюдента.

Результаты. При оценке влияния ТБГ в концентрациях, соответствующих физиологической беременности (1, 10, 100 мкг/мл) на уровень наивных Т-клеток установлено, что ТБГ (100 мкг/мл) снижал процент этих клеток в культуре (с 33,76±3,24% в контроле до 27,25±3,51% в пробе с ТБГ, 100 мкг/мл). В то же время, ТБГ не влиял на количество эффекторных Т-клеток памяти. Интересно, что ТБГ проявил угнетающее действие на количество CD4+ Т-эффекторов (с 3,22±1,27% в контроле до 2,30±1,15% - ТБГ 100 мкг/мл и 2,53±1,27% - ТБГ 10 мкг/мл) в концентрациях соответствующих II-III триместрам беременности (10 и 100 мкг/мл). Очевидно, снижение количества Т-эффекторов может иметь в ситуации *in vivo* фетопротекторный смысл. Таким образом, впервые установлена роль ТБГ в регуляции перехода фенотипа наивных CD4+ Т-клеток (CD45RA+CD45RO-CD62L+) в CD4+ Т-хелперы-эффекторы (CD45RA+CD45RO-CD62L-). Продемонстрировано, что ТБГ снижал количество клеток в эффекторных субпопуляциях Т-хелперов.

*Исследование поддержано грантом РФФИ 16-04-00591*

# ДЛИТЕЛЬНОЕ БАКТЕРИОФАГАЛЬНОЕ ИНФИЦИРОВАНИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА КРЫС СНИЖАЕТ ЭКСПРЕССИЮ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА В КЛЕТКАХ ПАНЕТА

Кузнецова Ю.Н.

ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный университет», г. Ижевск, Россия

**Научный руководитель: профессор, д.б.н. Сергеев В.Г.**

Исследования последних лет демонстрируют влияние микробиоты кишечника на различные физиологические процессы в организме хозяина. Дисбиоз, т.е. изменение состава микробиоты, может индуцировать развитие целого ряда заболеваний. В основе патофизиологических механизмов таких заболеваний лежит проникновение микроорганизмов или их продуктов через эпителиальный барьер слизистой оболочки [1]. Ключевую роль в предотвращении эпителиальной проницаемости играют клетки Панета - специализированные клетки дна либеркюновых крипт тонкого кишечника, которые вырабатывают противомикробные факторы, такие как лизоцим и  $\alpha$ -дефензин [2]. Высказано предположение, что дисбиоз может снижать продукцию противомикробных факторов клетками Панета [3]. Известно, что одной из причин дисбиоза может быть бактериофагальное инфицирование кишечной микробиоты, однако, не описаны реакции клеток Панета в этих условиях. Неизвестны также внутриклеточные молекулярные механизмы, которые нарушают процессы секреции бактерицидных веществ.

Мы предполагаем, что в регуляцию продукции противомикробных факторов клеток Панета вовлечен белок альфа-синуклеин (А-син). Ранее была выявлена роль этого белка в развитии синуклеопатий [4]. Позже А-син был обнаружен в различных типах секреторных клеток, где он, встраиваясь в стенку секреторных гранул, препятствует их слиянию с цитоплазматической мембраной [5]. В настоящее время отсутствуют свидетельства о синтезе А-син в клетках Панета, также как и данные о влиянии бактериофагального инфицирования на интенсивность его экспрессии.

Для проверки предположения о том, что альфа-синуклеин вовлечен в регуляцию секреции клеток Панета, мы предприняли исследование, целью которого являлось исследование экспрессии альфа-синуклеина клетками Панета в норме и в условиях длительного бактериофагального инфицирования микробиоты у крыс.

Экспериментальные исследования проведены на 12 крысах-самцах весом 280-320 г. Животным основной группы ежедневно ректально вводили 0,5 мл смеси бактериофагов, тогда как контрольная группа получала такой же объем стерильного физиологического раствора. Через 12 недель эксперимента были отобраны фрагменты подвздошной кишки и изготовлены гистологические срезы, часть из которых была окрашена иммуногистохимическим методом, другая – гематоксилином и эозином.

На поперечных срезах тонкой кишки животных контрольной группы был выявлен целый ряд иммунопозитивных к А-син структур.

В подслизистой основе и между слоями мышечной оболочки мы наблюдали меченые нейроны, которые входят в состав подслизистых и межмышечных нервных сплетений соответственно. В подслизистой основе и в собственной пластинке слизистой оболочки локализовались клетки, морфология и размеры которых соответствовали лимфоцитам.

На дне кишечных крипт мы наблюдали клетки с интенсивной иммунопозитивной меткой к альфа-синуклеину, которая занимала преимущественно апикальные части клетки. В среднем на одну крипту насчитывалось 6 - 8 иммунопозитивных клеток. Гистотопография клеток и наличие в них плотных скоплений гранул, окрашиваемых эозином, позволили нам идентифицировать их как клетки Панета. Иммунопозитивная метка концентрировалась в той же области клетки, где локализовались ацидофильные гранулы. На основании чего, логично

полагать, что, по крайней мере, часть выявляемого альфа-синуклеина могла быть ассоциирована с секреторными везикулами.

Длительное инфицирование микробиоты кишечника приводило к снижению количества иммунопозитивных клеток относительно контрольных показателей. У контрольных животных на стандартных площадках среза стенки кишки площадью 0,24 мм<sup>2</sup> насчитывалось 37,8±2,4 иммунопозитивных клеток, тогда как в эксперименте их количество снижалось до 11,8±3,2 единиц (P<0,001). Количество меченых клеток в составе крипт сокращалось, в среднем, до 2–3, в части крипт не обнаруживались меченые клетки.

Пул гранул, иммунопозитивных к альфа-синуклеину, о котором судили на основе измерения площадей иммунопозитивного продукта, приходящихся на одну клетку, также сокращался. Клеточные площади, занятые меченым альфа-синуклеином у животных основной группы, были меньше таковых у контроля на 84,9±24,3% (P<0,001). Площадь, занимаемая ацидофильными гранулами в клетках Панета крыс основной группы, была меньше этого показателя у животных контрольной группы на 26,4±14,1% (P<0,001).

Таким образом, наше исследование впервые продемонстрировало экспрессию альфа-синуклеина в клетках Панета. Можно предположить, что альфа-синуклеин, выявленный в области концентрации секреторных везикул клеток Панета, вовлечен в модуляцию процессов экзоцитоза бактерицидных молекул. Обнаруженное нами количественное снижение оксифильных гранул в клетках Панета в условиях длительного бактериофагального инфицирования кишечной микробиоты позволяет предположить, что оно может быть вызвано изменением состава микробиоты. Наблюдаемое в этих условиях падение экспрессии альфа-синуклеина может свидетельствовать о наличии механизма снижения экспрессии этого ингибитора экзоцитоза, который активируется в ситуации повышения спроса на противомикробные молекулы.

#### **Библиографический список**

1. Rea K., Dinan T.G., Cryan J.F. The microbiome: A key regulator of stress and neuroinflammation // *Neurobiol Stress*. 2016. Vol.4. P.23–33.
2. Ganz T. Paneth cells - guardians of the gut cell hatchery // *Nature Immunol*. 2000. Vol.1. P.99–100.
3. Tetz G., Tetz V. Bacteriophage infections of microbiota can lead to leaky gut in an experimental rodent model // *Gut Pathog*. 2016. Vol.8. P.33.
4. Benskey M. J., Perez R. G., Manfredsson F. P. The contribution of alpha synuclein to neuronal survival and function - Implications for Parkinson's disease // *J Neurochem*. 2016. Vol.137, №3. P.331–359.
5. Gitler A. D., Shorter J. Prime time for  $\alpha$ -synuclein // *J Neurosci*. 2007. Vol.27. P.2433–2434.

## **ИММУНОДИАГНОСТИКА С ПРИМЕНЕНИЕМ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ**

Кропанева М.Д.<sup>1</sup>, Храмов П.В.<sup>1,2</sup>, Раев М.Б.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

В настоящее время в иммунодиагностике существует необходимость создания аналитических тест-систем с высокой чувствительностью, поскольку маркеры многих заболеваний находятся в биологических средах в столь низких концентрациях, что

классические методы иммуноанализа не способны их детектировать [2]. Ядерная магнитная резонансная релаксометрия - один из подходов к повышению чувствительности [1,3]. При ЯМР-релаксометрии применяются детектирующие реагенты на основе магнитных наночастиц. Суть анализов, использующих данный метод заключается в регистрации изменения времени релаксации протонов T2 в зависимости от присутствия в среде магнитных наночастиц (МНЧ) [3]. В наших исследованиях данный принцип осуществляется следующим образом. Тест-система представлена в формате твердофазного иммуноанализа. При связывании магнитных наночастиц с мишенью они задерживаются на поверхности твердой фазы и время релаксации T2 снижается. Таким образом, чем больше молекул analyта находится в пробе, тем больше магнитных наночастиц будет находиться на поверхности твердой фазы и тем меньше будет показатель времени T2.

Цель работы - показать применимость в иммунодиагностике конъюгатов на основе магнитных наночастиц с распознающими молекулами на примере ЯМР-анализа для определения простатспецифического антигена (ПСА).

В работе использовали конъюгаты аминированных железоуглеродных наночастиц (Fe@C-NH<sub>2</sub>) со стрептавидином, белком G, моноклональными антителами (МКА, клон 1A6) против ПСА. Твердофазный анализ для детекции простатспецифического антигена проводили следующим образом. Полоски из нитроцеллюлозной мембраны 80x6 мм с размером пор 8 мкм предварительно вымачивали в ФБ (0,15М раствор NaCl, забуференный 0,015М Na-фосфатами). Далее на полоски сорбировали моноклональные антитела против ПСА (клон 3A6). Полоски высушивали 15 мин при комнатной температуре, затем полчаса при +37°C в термостате, после чего их помещали в пластиковые планшеты. Полоски трехкратно промывали ФБ + 0,1%Твин-20 (ФБТ), блокировали в течение часа, затем вновь промывали и вносили в лунки раствор ПСА в различных концентрациях и инкубировали в течение 60 мин. После этого полоски трехкратно промывали и инкубировали с суспензией Fe@C-NH<sub>2</sub>/BCA/МКА. Спустя 1 час полоски промывали и проводили измерение времени релаксации T2 при помощи портативного ЯМР-релаксометра.

Продемонстрирована возможность использования конъюгатов на основе магнитных наночастиц с моноклональными антителами в твердофазном ЯМР-анализе для определения ПСА (Рис. 1). Разработана методика подготовки твердофазного иммуносорбента. Проведена оптимизация процедуры твердофазного ЯМР-анализа.

Разработанный метод диагностики обладает высокой чувствительностью и может быть использован при конструировании тест-систем для определения маркеров различных заболеваний.

*Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №17-15-01116)*

Время релаксации T2, мс

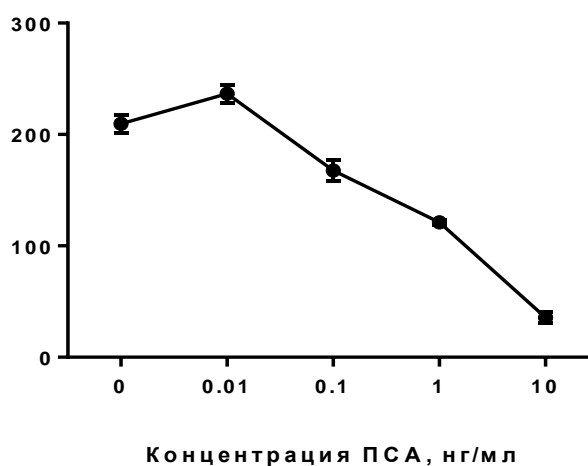


Рис. 1. Калибровочная кривая детекции ПСА (среднее значение ± стандартное отклонение, n = 3)



### Библиографический список

1. Alcantara D., Lopez S., García-Martin M. L., Pozo D. Iron oxide nanoparticles as magnetic relaxation switching (MRSw) sensors: Current applications in nanomedicine // *Nanomedicine: NBM*. 2016. V. 12. №5. P.1253-1262.
2. Arya, S.K., Estrela, P. Recent advances in enhancement strategies for electrochemical ELISA-based immunoassays for cancer biomarker detection // *Sensors (Switzerland)*. 2018. V.18. № 7. P. 2-45
3. Zhang Y., Yang H., Zhou Z., Huang K., Yang S., Han G. Recent Advances on Magnetic Relaxation Switching Assay-Based Nanosensors // *Bioconjugate Chemistry*. 2017. V. 28. №. 4. P. 869-87

## ГРЕЛИН РЕГУЛИРУЕТ ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ ДЕНДРИТНЫМИ КЛЕТКАМИ ТИМУСА

Орлова Е.Г.<sup>1</sup>, Ширшев С.В.<sup>1</sup>, Логинова О.А.<sup>1,2</sup>, Логинова Н.П.<sup>2</sup>,  
Шехмаматьев Р.М.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, г. Пермь,

<sup>3</sup> Федеральный краевой центр сердечно-сосудистой хирургии им. С.Г. Суханова, г. Перми

Грелин – пептидный гормон, продуцируемый энтероэндокринными клетками желудочно-кишечного тракта, регулирует аппетит и энергетический баланс. Грелин обладает противовоспалительными и иммунорегуляторными свойствами, замедляет возрастную инволюцию тимуса, восстанавливая клеточность и архитектуру органа, участвует в тимической дифференцировке лимфоцитов [1-2]. Известно, что ключевую роль в регуляции созревания клеток в тимусе играют дендритные клетки, которые за счет контактных взаимодействий и продукции цитокинов контролируют селекцию, созревание и направленность дифференцировки тимоцитов [3]. В тимусе присутствуют два типа дендритных клеток – миелоидные (mDC) и плазмоцитоподобных (pDC) [4]. Оба типа клеток играют ведущую роль в презентации аутоантигенов, отрицательной селекции тимоцитов, индукции ауто толерантности и формировании регуляторных субпопуляций лимфоцитов [4]. Ранее в наших работах показано, что грелин модулирует экспрессию мембранных молекул DC тимуса, продукцию цитокинов DC периферической крови, а также созревание тимоцитов и направленность дифференцировки наивных Т-клеток периферической крови с участием DC [5,6]. Однако роль гормона в регуляции функций DC тимуса остается малоисследованной.

**Цель работы** – изучить влияние грелина на продукцию основных поляризующих цитокинов - IL-12, IL-4, IL-10 mDC и pDC тимуса.

**Материалы и методы.** В исследовании использовали суспензию клеток тимуса, удаляемых в ходе сердечно-сосудистых операций у детей до года при коррекции врожденных пороков сердца в соответствии с существующей хирургической практикой Федерального краевого центра сердечно-сосудистой хирургии г. Перми. Исследования проводились согласно Хельсинской Декларации ВМА 2000 г. и Конвенции Совета Европы «О правах человека и биомедицине» 1999 г. Обязательным критерием включения являлось наличие добровольного согласия со стороны законных представителей несовершеннолетних. mDC и pDC выделяли из суспензии клеток тимуса методом иммуномагнитной сепарации (MACS «Miltenyi Biotec», Германия) в модификации [7]. Чистота выделения mDC и pDC

контролировалась методом проточной цитометрии и составляла 96,5% и 91,7%, соответственно.  $0,1-1 \times 10^6$  mDC и pDC инкубировали в 1мл ППС (среда RPMI-1640, 10% ЭТС, 1мМ NEPES, 2мМ L-глутамин, пенициллина G (100 ЕД/мл)-стрептомицина (0,1 мг/мл)) в присутствии грелина 24 ч при 37°C и 5% CO<sub>2</sub>. Грелин вносили в культуры в концентрации 1,25 нг/мл, соответствующей его максимальному уровню в периферической крови при беременности [5,6]. Контролем служили пробы, куда вместо гормона вносили физраствор, используемый для его растворения. После инкубации в супернатантах культур определяли концентрацию цитокинов IL-12(p40), IL-12(p70), IL-4, IL-10 методом ИФА («BioLegend», США; ООО «Цитокин», Россия). Нормальность распределения в выборке оценивалась тестом  $\chi$ -квадрат.

**Результаты и обсуждение.** Установлено, что mDC тимуса в большей степени продуцируют IL-12(p70) и IL-12(p40), чем pDC. Инкубация с грелином снижает продукцию IL-12(p70) pDC, но не влияет на синтез IL-12(p40), IL-4 и IL-10 в культурах mDC и pDC (таблица). Субъединица p40 является общей для семейства IL-12/IL-23 и отражает также продукцию IL-23 DC. По данным литературы, pDC играют ведущую роль в формировании естественных Treg в тимусе [3]. Синтез IL-12(p70) DC препятствует формированию Treg [3]. Ограничение грелином продукции IL-12(p70) именно pDC объясняет эффекты гормона по стимуляции формирования естественных Treg в тимусе. «Работа выполнена в рамках государственного задания номер госрегистрации темы: 01201353248».

Таблица

Влияние грелина на продукцию цитокинов mDC и pDC тимуса

	IL-12p40, пг/мл		IL-12p70, пг/мл	
	mDC	pDC	mDC	pDC
К	50,0 (41,3-84,8)#	19,6 (15,2-23,9)	5,1 (3,3-5,8)#	2,3 (1,0-3,3)
Г	76,1 (69,6-84,8)#	17,4 (10,9-25,0)	3,7 (3,0-5,1) #	0,7 (0,4-1,4)*

	IL-4, пг/мл		IL-10, пг/мл	
	mDC	pDC	mDC	pDC
К	7,1 (5,0-8,8)	10,5 (8,0-13,0)	219,5 (205,8-274,5)	259,5 (228,3-290,8)
Г	10,5 (8,6-20,5)	7,1 (6,3-10,7)	134,5 (104,5-145,0)	212,3 (203,3-220,8)

Примечание: К – контроль, Г – грелин 1,25 нг/мл; # -  $p < 0,05$  по критерию Вилкоксона к пробе с pDC; \* -  $p < 0,05$  по парному критерию Вилкоксона к контрольной пробе;  $n=7$ .

#### Библиографический список

1. Dixit V.D. et al. Ghrelin promotes thymopoiesis during aging. // J. Clin. Invest. 2007. V.117. P.2778-2790.
2. Lee J.H. et al. The Anti-apoptotic Effect of Ghrelin on Restraint Stress-Induced Thymus Atrophy in Mice // Immune Netw. 2016 V.16. P.242-248.
3. Hanabuchi S. et al Thymic stromal lymphopoietin-activated plasmacytoid dendritic cells induce the generation of FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells in human thymus. // J. Immunol. 2010. V.184. P.2999-3007.
4. Wu L., Shortman. K. Heterogeneity of thymic dendritic cells. // Semin. Immunol. 2005.17: 304–312.
5. Ширшев С.В. с соавт. Гормональная регуляция дифференцировки дендритных клеток тимуса. // БЭБИМ, 2018. Т. 165, №2, 193-198.
6. Орлова Е.Г. с соавт. Лептин и грелин регулируют созревание дендритных клеток, индуцирующих формирование регуляторных Т-лимфоцитов // ДАН. 2015. Т. 462, № 6, с. 723–726.
7. Stoeckle C. et al. Isolation of myeloid dendritic cells and epithelial cells from human thymus // J. of visualized experiments. 2013. V.79. pp:e50951.

# ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА КАК ПРЕДИКТОРЫ ГИПЕРКОАГУЛЯЦИИ

Семёновых Е.А.

*ФГБОУ ВО «Ижевская государственная медицинская академия», г. Ижевск, Россия*

**Научный руководитель: д.м.н., профессор Шкляев А.Е.**

Фолатный цикл представляет собой сложный каскадный процесс, контролируемый ферментами, которые в качестве коферментов имеют производные фолиевой кислоты. Ключевым этапом в этом процессе является синтез метионина из гомоцистеина. В этом процессе участвуют ферменты метилентетрагидрофолатредуктаза (МТНФР), метионинсинтаза (МТР) и метионинсинтаза редуктаза (МТТР).

Анализ мутаций в генах фолатного цикла позволяет определить предрасположенность к ряду патологий. Полиморфизм гена МТНФР приводит к дефициту этого фермента, что провоцирует активацию многих клеточных генов, в том числе и онкогенов. Кроме того, происходит избыточное накопление гомоцистеина – промежуточного продукта синтеза метионина. Гипергомоцистеинемия является независимым фактором риска атеросклероза и атеротромбоза.

Существует два варианта полиморфизма гена МТНФР. Вариант Т (МТНФР С677Т) связан с заменой нуклеотида цитозина (С) на тимин (Т) и может провоцировать возникновение 4-ёх групп многофакторных заболеваний: сердечно-сосудистых, дефектов развития плода, колоректальной аденомы и рака молочной железы и яичников.

Вариант С полиморфизма гена МТНФР (МТНФР А1298С) связан с точечной заменой нуклеотида аденина (А) на цитозин (С). У лиц, гомозиготных и гетерозиготных по этому варианту полиморфизма отмечается некоторое снижение активности метилентетрагидрофолатредуктазы. Это снижение обычно не сопровождается изменением уровня гомоцистеина в плазме крови, однако, обуславливает повышенную потребность в фолатах и высокий риск онкологических заболеваний.

Полиморфизм гена МТТР А66G связан с заменой нуклеотида аденина (А) на гуанин (G). В результате этой замены функциональная активность фермента снижается, что приводит к повышению риска развития гипергомоцистеинемии и заболеваний сердечнососудистой системы, в частности ИБС. Наличие такой нуклеотидной замены в женском организме может привести к осложнениям беременности, таким как поздние гестозы, отслойка плаценты, невынашивание беременности, задержка внутриутробного развития, антенатальная гибель плода. Также возможны нарушения развития плода – дефекты развития нервной трубки, незаращение губы или неба и анэнцефалия.

Полиморфизм гена МТР А2756G связан заменой нуклеотида аденина (А) на гуанин (G). В результате этой замены функциональная активность фермента изменяется, что может привести к гипергомоцистеинемии, повышению риска ИБС. У женщин наличие данной мутации увеличивает риск возникновения осложнений беременности, а также таких дефектов развития плода как синдром Дауна, незаращение костномозгового канала, незаращение верхней губы или неба [1].

Согласно данным литературы частота встречаемости варианта С677Т полиморфизма гена МТНФР в популяции: Т/Т – 10-16%, С/Т – 56%; варианта А1298С полиморфизма гена МТНФР: С/С – 3-13%, А/С – 45-55%. Полиморфизм МТТР А66G встречается в популяции с частотой 15-25% – мутантная гомозигота, 40-50% – гетерозигота; а МТР А2756G с частотой 20-30% [2].

Цель исследования: изучить особенности распределения полиморфизмов С677Т, А1298С гена МТНФР, А66G гена МТТР и А2756G гена МТР у пациентов БУЗ УР "Первая Республиканская клиническая больница МЗ УР".

Материалы и методы исследования. Были проанализированы результаты анализа ПЦР «real-time» на определение однонуклеотидных полиморфизмов генов системы свертывания крови и фолатного цикла 327 пациентов БУЗ УР "Первая Республиканская клиническая больница МЗ УР" за 2017 год.

Более половины направленных на анализ мутаций в генах фолатного цикла пациентов являются неврологическими больными и пациентками центра ЭКО и репродукции человека.

Результаты и обсуждение. Не обнаружено мутаций в генах фолатного цикла у 6 пациентов (1,8%). Носителями одного из полиморфизмов (С677Т, А1298С гена МТНFR, А66G гена МТRR или А2756G гена МТR) являются 55 человек (16,8%) из обследованных: 33 гетерозиготы и 22 мутантные гомозиготы. Комбинация двух полиморфизмов встретилась в 144 случаях (44,0%), причём чаще всего (61 случай) встречается комбинация МТНFR А1298С и МТRR А66G. Сочетание трёх полиморфизмов встречается в 98 случаях (30,0%), чаще всего одновременно встречаются МТНFR А1298С, МТRR А66G и МТR А2756G – 39 случаев. Комбинация всех четырёх полиморфизмов обнаружилась у 24 пациентов (7,4%); при таких сочетаниях полиморфизмы С677Т и А1298С гена МТНFR всегда находились в гетерозиготном состоянии, тогда как полиморфизмы А66G гена МТRR или А2756G гена МТR встречались и в гетерозиготном и в гомозиготном состояниях.

Чаще всего обнаруживался полиморфизм гена МТRR – 255 случаев, из них у 146 пациентов этот ген был в гетерозиготном состоянии, а у 109 выявлена мутантная гомозигота. Реже определялись носители варианта С полиморфизма гена МТНFR – 191 пациент, из них 153 имеют этот ген в гетерозиготном состоянии и 38 в гомозиготном. Вариант полиморфизма Т гена МТНFR найден у 148 человек: у 119 гетерозигота, у 29 мутантная гомозигота. Реже всего регистрировался полиморфизм гена МТR – 139 раз, из них 125 гетерозигот и 14 мутантных гомозигот.

Изолированный полиморфизм Т гена МТНFR встретился у 7 исследуемых, вариант С гена МТНFR у 16 пациентов, полиморфизм гена МТR зарегистрирован у 5 человек, а гена МТRR у 27. Комбинация полиморфизмов генов МТRR и варианта С гена МТНFR встречалась чаще всего - в 61 случае, генов МТRR и варианта Т гена МТНFR – в 41 случае. Сочетание генов МТR и варианта Т гена МТНFR обнаружено в 10 случаях, генов МТR и варианта С гена МТНFR – в 13 случаях. Нередко встречаются комбинации трёх полиморфизмов: генов МТR, МТRR и варианта С гена МТНFR – 39 случаев; генов МТR, МТRR и варианта Т гена МТНFR – 28 случаев. Полиморфизмы гена МТRR и вариантов С и Т гена МТНFR зарегистрированы у 23 пациентов, а гена МТR и вариантов С и Т гена МТНFR у 8 пациентов.

Заключение. Наиболее частым сочетанием мутаций генов фолатного цикла является полиморфизм МТНFR А1298С и МТRR А66G – 18,6% пациентов. Наиболее редкой комбинацией полиморфизмов генов фолатного цикла является наличие четырёх мутаций - 7,4% исследуемых. У большинства пациентов обнаружен полиморфизм А66G гена МТRR – 78%. Наиболее редко встречается полиморфизм С677Т гена МТНFR – 42,5%.

Людям, у которых обнаружен один или более полиморфизмов генов фолатного цикла необходимо отказаться от курения и употребления алкоголя, проводить профилактику гиповитаминозов В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub> и фолиевой кислоты. Женщинам с мутацией гена МТНFR С677Т следует избегать приема комбинированных оральных контрацептивов.

#### **Библиографический список**

1. Фетисова И.Н. Полиморфизм генов фолатного цикла и болезни человека// И.Н. Фетисова / Вестник Ивановской медицинской академии. – 2006. – №1-2. – с. 77-82.
2. Нарушения фолатного цикла, вызванные генетическими полиморфизмами // О.В. Небыльцова [и др.] / Здоров'я України: Гінекологія, Акушерство, Репродуктологія. – 2013. – №1. – с. 49-50.

# СУБЪЕКТИВНОЕ ВОСПРИЯТИЕ ВРЕМЕНИ ШКОЛЬНИКАМИ

Столетняя А.Е.

ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия

Научный руководитель: к.п.н., доцент ИЕНиМ УрФУ Ломтатидзе О.В.

Время является важнейшим компонентом жизнедеятельности человека. В психофизических исследованиях восприятие времени традиционно изучают на примере интервалов определенной длительности. Адекватное отражение времени человеком - это одно из условий адаптации к изменению окружающей среды. Как известно, у человека нет анализатора времени. Восприятие времени осуществляется на основе интеграции нескольких сенсорных систем «Мозг придает смысл времени по мере того, как событие переживается»- говорит Альберт Цао, исследователь из норвежского института системной нейронауки имени Кавли [1].

Филип Зимбардо, занимающейся психологией времени, обнаружил, что ориентация во времени влияет на наши решения и поведение, формируя нашу жизнь, даже если мы об этом не подозреваем.[2]

Лупандин В.И., Дмитриева А.С., Элькина Д.Г. [3] считали, что точность оценки времени с возрастом увеличивается, и связано это, с усилением роли второй сигнальной системы.

В данном исследовании уделяется внимание восприятию временных промежутков учеников средней школы. А именно, всего было 12 человек, из которых 4 девочки и 8 мальчиков возрастом от 11 до 13 лет.

Испытуемым было необходимо произвести отсчет коротких и длинных временных интервалов.

За короткий временной интервал был взят промежуток в 10 секунд, а за длинный -60 секунд. Было произведено 3 серии экспериментов, в каждой из них были выше предложенные временные промежутки. В первой части испытуемые производили оценки «пустых» т.е. не заполненных никакой деятельностью, в том числе и счетом, временных интервалов[5]. Во второй части было необходимо также произвести оценку временного интервала, но уже с отсчетом в уме. В третьем - кросс-модальный подбор. В этом случае испытуемый начинает отмерять предложенное количество секунд, рисуя на бумаге сплошную линию и обрывая ее, говоря «стоп», в тот момент, когда, по его мнению, заданное время истекло[4].

Для проведения данных исследований выборка делилась на пары, в которых по очереди были испытуемыми и экспериментаторами. Экспериментатор говорил о начале отсчета, а испытуемый- о конце, основываясь на своих субъективных ощущениях.

Таким образом, были получены следующие результаты:

Стоит также принять во внимание, что средний показатель вычисляется через десятичный логарифм каждого субъективного значения и последующего нахождения среднего арифметического значения.

Из этого следует, что эталоном с интервалом в 10 секунд, является логарифм равный 1, а для промежутка в 60 секунд- 1,78.

Таблица

Средние значения и стандартные отклонения исследуемых временных интервалов

	Серия 1		Серия 2		Серия 3	
	10с	60с	10с	60с	10с	60с
Средний показатель и стандартное отклонение	0,93±0,13	1,62±0,13	1,03±0,08	1,72±0,10	1,12±0,14	1,81±0,15

По результатам выше приведенной таблицы можно сказать, что наиболее точное отмеривание временных интервалов длительностью в 10 секунд наблюдается при «заполненных», а именно с отсчетом в уме промежутков. В то время как интервал в 60 секунд лучше оценивался при кросс-модальном подборе.

На оценку времени личности влияют такие факторы как возраст, личный опыт, эмоциональное состояние, особенности работы «биологических часов» данного индивида, а также интерес в проводимом исследовании.

Сравнение школьников средней школы и старшеклассников, будущих абитуриентов, показало, что оценка временного интервала с длительностью в 10 секунд у обеих групп более точна при отмеривании «заполненных» интервалов. При длительности 60 секунд, обе группы были на равновременном расстоянии от эталона: дети средней школы переоценивали, а старшей - недооценивали.

#### **Библиографический список**

1. Rita Elmkvist Nilsen. How the Brain Experiences Time [[Электронный ресурс]]/]
2. Neuroscience News August 29, 2018: <https://neurosciencenews.com/time-perception-9771>, (3.02.2019).
3. Boris Zubkov. длительность интервалов времени [[Электронный ресурс]]/] <https://mindware.ru/blog/?tag=длительность-интервалов-времени> (17.04.2019).
4. Киреева З. А. Развитие сознания, детерминированное временем. – 2010. 308с.
5. Ломтатидзе О.В., Алексеева А.С. Общая психология: Сенсорно-перцептивные процессы: практикум [ учеб.-метод. пособие]/М-во образования и науки Рос.Федерации, Урал. Федер.ун-т.-Екатеринбург: Изд-во Урал. Ун-та, 2016.-76с.

## **ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У КРЫС ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩИХ ТРАНСПЛАНТАТОВ ПОЗВОНКА**

Усачёв В.А., Карпенко В.Н.

*ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия*

**Научные руководители: к.б.н., доцент Арташян О.С., д.б.н., профессор Котомцев В.В.**

Зачастую переломы позвоночного столба сопровождаются разрушением тел позвонков. В подобных случаях остро стоит вопрос о подборе материала для замещения костного дефекта. По гематологическим показателям можно судить о течение физиологических процессов после имплантации [1,2].

Исследование было проведено на 16 крысах линии Wistar: 6 – контрольная группа и две опытные по пять особей. Всем крысам под эфирным наркозом проводили операцию по удалению третьего хвостового позвонка с заменой его опытным группам на сформированный заранее под кожей соединительнотканый аутопротез (группа "Аутотрансплантат") [3], либо протез на основе желатина (группа "Желатин"). В послеоперационный период производился ежемесячный забор крови для проведения гематологического анализа. Статистический анализ крови осуществлялся непараметрическими критериями Краскела—Уоллиса и Хи-квадрат с поправкой Йетса.

Результаты эксперимента выявили различия между контрольной и опытными в эритроцитарных показателях (Таблица 1). В группе "желатин" было выявлено снижение количества эритроцитов (RBC), гемоглобина (Hb), гематокрита (Hct), среднего объема

эритроцитов (MCV), возрастание среднего содержания гемоглобина (MCH) и его концентрации в эритроцитах (MCHC).

Таблица 1.

Значимо различающиеся показатели эритроцитарных показателях (\*- отличие от группы "Контроль" значимо при  $p < 0.05$ )

Показатели	Группа "Контроль"	Группа "Аутотрансплантат"	Группа "Желатин"
1 Месяц			
MCV	49.65±0.76	48.62±0.91	46.16±0.37 *
MCH	16.15±0.21	17.6±0.45	18.74±0.14 *
MCHC	32.53±0.39	36.26±1.23	40.6±0.61 *
3 Месяца			
RBC	10.33±0.16	9.23±0.06 *	9.11±0.12 *
Hct	49.7±0.33	44.5±0.51	42.64±0.62 *
Hb	19.17±0.14	17.12±0.14	16.88±0.25 *
RDW	20.47±0.49	18.42±0.8	16.74±0.68 *
5 Месяцев			
RBC	9.89±0.18	9.32±0.18	9.06±0.19 *
Hct	48.43±1.08	45.44±1.49	42.06±0.96 *
MCV	48.92±0.68	48.72±0.94	46.44±0.34 *
MCHC	37.77±0.28	38.8±0.79	40.16±0.29 *
6 Месяцев			
Hb	18.65±0.31	17.16±0.32	16.74±0.36*
MCH	19.13±0.15	18.76±0.19	18.48±0.05 *

Снижение показателей эритроидных клеток свидетельствует о замедлении процессов эритропоэза и преобладании в периферической крови зрелых эритроцитов.

Кроме этого в группе желатин с 3 по 5 месяц после операции был выявлен тромбоцитоз (более  $1200 \cdot 10^9/\text{л}$ ), что свидетельствует о затянувшемся воспалительном процессе и компенсаторной реакции на фоне введения желатинового трансплантата (рис. 1).

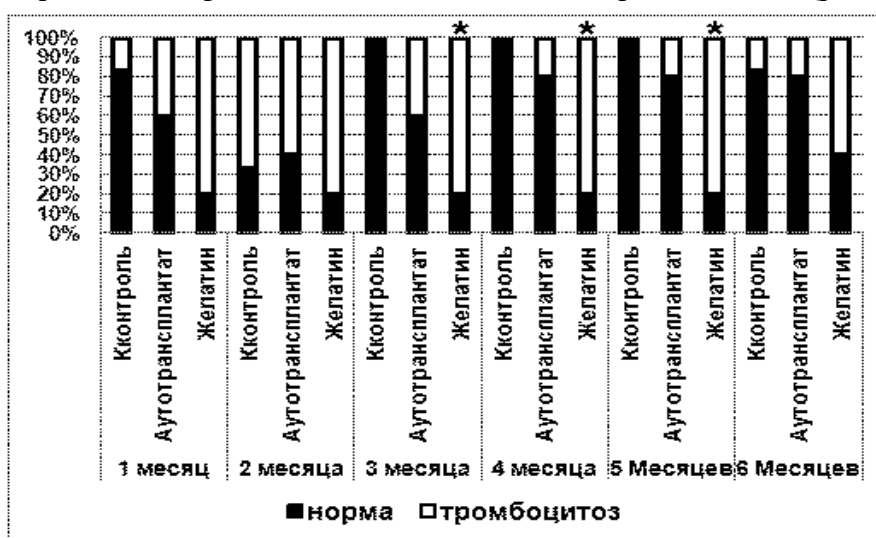


Рис. 1. Соотношение нормальных и животных с тромбоцитозом в ходе эксперимента (\*- отличие от группы "Контроль" значимо при  $p < 0.05$ )

В результате эксперимента на всем его протяжении не было выявлено значимых различий в лейкоцитарных показателях между контрольной и опытными группами, что позволяет сделать заключение об отсутствии аллергической реакции или отторжении трансплантатов.

Выводы. Таким образом, было показано, что применение желатиновых протезов вызывает развитие анемии со снижением эритропоза у крыс и развитием тромбоцитоза на фоне продолжительного воспалительного процесса. В то время, как использование соединительнотканного аутопротеза для замещения удаленного позвонка не вызывает значимых сдвигов во всех исследуемых гематологических показателях. Кроме того, используемые в эксперименте коллагенсодержащие трансплантаты не вызывают реакций отторжения.

#### Библиографический список

1. Дружинина Т.В. и др. Замещение костной ткани у животных с использованием биodeградируемого материала на основе гидроксиапатита/ Т. В. Дружинина, В. В. Бочкарёв, В. Н. Виденин, А. А. Климентьев, В. П. Попов //Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2015. – Т. 52. – №. 1.

2. Чепелева М. В. и др. Динамика иммунологических и гематологических показателей при замещении дефектов длинных трубчатых костей в условиях ограничения их от мягких тканей аллотрансплантатом (экспериментальное исследование) / М. В. Чепелева, А. Н. Дьячков, С. П. Изотова, И. В. Ручкина, О. Л. Кармацких //Гений ортопедии. – 2004. – №. 4.

3. Тюменцева Н.В. Новый метод получения аутопротезов для пластики различных органов/ Н. В. Тюменцева, Б. Г. Юшков, С. Ю. Медведева // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2016. – Т. 18. – №. 5. – С. 219-219.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОГО ЭФФЕКТА НАНОКОНТЕЙНЕРОВ ГАЛЛУАЗИТ-КУРКУМИН-ДЕКСТРИН С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ В КАЧЕСТВЕ МОДЕЛЬНОГО ОРГАНИЗМА НЕМАТОД *TURBATRIX ACETI*

Фахруллина Г.И., Хакимова Э.И., Ахатова Ф.С., Коннова С.А.

*ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ИФМиБ, г. Казань, Россия*

**Научный руководитель: д.б.н. Фахруллин Р.Ф.**

Куркумин – полифенол природного происхождения, обладающее антибактериальным, антиоксидантным, антираковым свойствами [1]. Однако фармакологическое применение куркумина ограничено его гидрофобностью и низкой биодоступностью. Таким образом, для облегчения доставки куркумина и расширения диапазона его перспективных терапевтических применений актуальным является создание тщательно продуманных наноносителей.

В качестве наноносителей использовали природные алюмосиликатные нанотрубки галлуазита. Просвет галлуазитных нанотрубок заполняли куркумином методом вакуумной загрузки и покрывали ферментно-деградируемыми декстриновыми заглушками для уменьшения выхода лекарства [2]. Эффективность загрузки куркумина в галлуазит оценивали методом термogrавиметрического анализа. Морфологию наноконтейнеров исследовали с помощью электронной микроскопии. Для облегчения доставки куркумина проведена его инкапсуляция в нанотрубки галлуазита методом вакуумной загрузки. Нанотрубки, заполненные куркумином, были модифицированы декстрином для формирования ферментно-деградируемых заглушек. Термogrавиметрический анализ выявил, что эффективность загрузки куркумина в нанотрубки галлуазита составила  $18.3 \pm 0.3\%$  по массе. Микрофотографии, полученные с помощью электронной микроскопии, показали, что галлуазит сохранил свое первоначальное трубчатое строение после инкапсуляции лекарства и просветы нанотрубок были заполнены куркумином. Противомикробное действие



нанотрубок галлуазита, загруженных куркумином и покрытых декстрином (наноконтейнеры) в отношении бактерии *Staphylococcus aureus* изучали в системе «хозяин-микрофлора» с использованием почвенных нематод *Turbatrix aceti*. Было установлено значительное уменьшение кишечной колонизации нематод бактериями *S. aureus* в присутствии наноконтейнеров ( $500 \pm 17$  КОЕ/нематода) по сравнению с контролем ( $2651 \pm 204$  КОЕ/нематода). Кроме того, галлуазит, заполненный куркумином и покрытый декстрином, увеличил продолжительность жизни нематод, инфицированных *S. aureus* в 1.5 раза.

Таким образом, нанотрубки галлуазита, заполненные куркумином, потенциально могут стать эффективным антимикробным препаратом.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 17-04-02182).*

#### **Библиографический список**

1. Bioavailability of curcumin: problems and promises / P. Anand, A.V. Kunnumakkara, R.A. Newman, B.V. Aggarwal // *Mol Pharm.* – 2007. – Vol. 4. – P. 807-818.

2. Paclitaxel encapsulated in halloysite clay nanotubes for intestinal and intracellular delivery / R. Yendluri, Y. Lvov, M.M. Villiers, Vinokurov V. et al. // *J Pharm Sci.* – 2017. – Vol. 106. – P. 3131-3139.

### **ВЛИЯНИЕ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА НА КОНВЕРСИЮ НАИВНЫХ Т-ХЕЛПЕРОВ В ЭФФЕКТОРНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ Т-КЛЕТОК ПАМЯТИ**

Фомичева К.А.<sup>1</sup>., Заморина С.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия*

<sup>2</sup> *«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия*

Альфа-фетопротеин (АФП) - доминирующий белок эмбриональной сыворотки млекопитающих, уровень которого снижается до следовых количеств в крови взрослых особей, но вновь поднимается в случае возникновения и развития онкологических заболеваний [1].

Известно, что для материнского организма зародыш является полуаллогенным трансплантатом. Следовательно, физиологически протекающая беременность сопровождается изменениями, направленными на формирование иммунной толерантности к эмбриону [3]. Одним из наиболее значимых механизмов формирования иммунной толерантности является супрессия Т-клеточной памяти в условиях постоянного воздействия антигенов эмбрионального происхождения [2].

Во время беременности генерируются долгоживущие Т-клетки памяти, специфичные к фетоплацентарным антигенам [5]. Исследования, проведенные в 2017 г. Т.Е. Keiffer и соавт., показали, что физиологическая беременность не влияет на количество периферических цитотоксических лимфоцитов памяти (CD45R0+CD8+), но существенно регулирует функции CD4+-лимфоцитов памяти. В последние годы было показано, что уровень функциональной активности Т-клеток определяется стадией их дифференцировки, характеризующейся различной экспрессией ряда функциональных и адгезионных молекул [2]. Вопрос о линейности дифференцировки Т-клеток памяти до конца не изучен, тем не менее, считается, что изменение экспрессии изоформ CD45 непосредственно ассоциировано с прохождением клеток различных этапов дифференцировки [4].

T-лимфоциты, экспрессирующие CD45RA+, рассматриваются как наивные T-клетки, а экспрессирующие CD45R0+ как T-клетки иммунной памяти. В то же время, высоко дифференцированные T-клетки памяти способны реэкспрессировать на клеточной поверхности CD45RA. Часть наивных T-клеток (CD45RA+CD45R0-CD62L+) после контакта с антигеном претерпевает конверсию в центральные T-клетки памяти (TCM; CD45RA-CD45R0+CD62L+), которые не проявляют эффекторных функций, но могут быстро ответить на антиген при повторной стимуляции. Другая часть пула клеток памяти трансформируется в претерминально-дифференцированные эффекторные T-клетки памяти (TEM; CD45RA-CD45R0+CD62L-) и терминально-дифференцированные T-клетки памяти (TEMRA; CD45RA+CD45R0-CD62L-). Как TEM, так и TEMRA, секретируют цитокины, прежде всего ИЛ-4 и ИФН- $\gamma$ , а также другие биологически активные молекулы [4].

Цель работы: изучение роли АФП в регуляции конверсии наивных T-хелперов в центральные T-клетки памяти (TCM) и эффекторные субпопуляции T-клеток памяти (TEM и TEMRA).

Задачи:

- 1) проанализировать роль АФП в регуляции соотношения изоформ CD45 в монокультуре T-хелперов
- 2) установить влияние АФП на конверсию наивных T-хелперов в эффекторные T-лимфоциты
- 3) оценить в супернатантах монокультур T-хелперов уровень основных цитокинов, определяющих направленность иммунного ответа – ИЛ-4 и ИФН- $\gamma$

Объектом исследования служили мононуклеарные клетки периферической крови здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста, выделенные на градиенте плотности фиколла-верографина ( $\rho=1.077$  г/см<sup>3</sup>) (Германия) и сепарированные из них монокультуры CD4+-клеток.

Фенотип изолированных CD4+-клеток оценивали по экспрессии определенных поверхностных рецепторов, характерных для разных популяций T-клеток. Для идентификации молекулярных маркеров использовали метод проточной цитометрии. Интенсивность флуоресценции измеряли на проточном цитометре BD FACSCaliburTM, США. Анализы полученных данных были обработаны в программе «KALUZA Analysis Software» (Beckman Coulter, США).

Результаты исследований:

- 1) АФП не влиял на пролиферацию клеток в монокультуре T-хелперов.
- 2) Установлено, что внесение в культуры активированных лимфоцитов АФП в концентрациях 10, 50 и 100 МЕ/мл не влияло на конверсию наивных T-хелперов в TCM. Однако, АФП во всех используемых концентрациях достоверно снижал уровень TEMRA, а в концентрациях 10 и 100 МЕ/мл снижал уровень TEM.
- 3) Показано, что АФП снижал продукцию ИЛ-4 (50, 100 МЕ/мл) и ИФН- $\gamma$  (100 МЕ/мл) в супернатантах культур активированных T-хелперов

Таким образом, АФП может являться одним из факторов, не позволяющим сформироваться и реализоваться иммунному ответу на фетоплацентарные антигены.

#### **Библиографический список**

- 1) *Абелев Г.И.* Альфа-фетопротеин: биология, биохимия, молекулярная генетика // Иммунология. 1994. Т. 3. С. 4–9.
- 2) *Заморина С.А., Литвинова Л.С., Юрова К.А., Дунец Н.А., Хазиахматова О.Г., Тимганова В.П., Бочкова М.С., Храмов П.В., Раев М.Б.* Роль фетоплацентарных белков в регуляции продукции интерлейкина-2 наивными T-клетками и T-клетками памяти // Вестник Перм. ун-та. Биология, 2017. N 1.
- 3) *Смирнова Т.Л., Портнова В.Е., Сергеева В.Е.* Иммунитет и беременность // Вестник Чуваш. ун-та, 2009. N 2.

4) Zamorina, S. A., Timganova, V. P., Bochkova, M. S., Khramtsov, P. V., Fomicheva, K. A., Rayev, M. B., Chereshnev, V. A.  $\alpha$ -Fetoprotein Influence on the Conversion of Naïve T-Helpers into Memory T-Cell Effector Subpopulations // Doklady Biological Sciences. 2018. T. 482, N 1. P. 210–213.

5) Kieffer, T.E., Faas, M.M., Scherjon, S.A., Prins, J.R. Pregnancy persistently affects memory t cell populations // Immunol. 2016. Vol. 119. P. 1–8.

## РОЛЬ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ Т-ХЕЛПЕРОВ 17 ТИПА (ТН17)

Шардина К.Ю.,<sup>2</sup> Заморина С.А.<sup>1,2</sup>, Тимганова В.П.<sup>1</sup>, Бочкова М.С.<sup>1</sup>, Черешнев В.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь, Россия

Во время беременности иммунная система матери подвержена аллоиммунизации антигенами плода. В формировании иммунной толерантности к эмбриону важную роль играют белки беременности, в частности, альфа-фетопротеин (АФП). Он синтезируется плацентой и представляет собой гликопротеин (3–5% углеводов) с молекулярной массой 68–75 кДа [1].

Известно, что физиологическая беременность сопровождается снижением Th17 в периферической крови в сравнении с небеременными женщинами [2]. Повышение уровня Th17, в свою очередь, ассоциировано с патологическими процессами и может приводить к преждевременным родам или спонтанному аборт [3]. Основным продуктом Th17, является провоспалительный цитокин ИЛ-17 [4]. Иммуносупрессивные эффекты АФП хорошо известны, однако его роль в дифференцировке Th17 до сих пор остается не исследованной [5]. Таким образом, целью работы являлась оценка влияния АФП на пролиферацию и дифференцировку Th 17.

В работе использовали мононуклеары периферической крови (МПК) здоровых небеременных женщин репродуктивного возраста (n=11). Клетки получали центрифугированием в градиенте плотности фиколла–верографина. Монокультуры CD4<sup>+</sup>-клеток (Т-хелперы) были получены методом иммуномагнитной сепарации из суспензии МПК. Выделенные Т-хелперы культивировали в полной питательной среде (ППС) при 37°C 72 часа. Нами были использованы физиологические концентрации (10, 50 и 100 МЕ/мл) нативного препарата АФП, полученного из сыворотки беременных женщин (ООО «Биалекса»). Для активации Т-лимфоцитов использовали частицы, покрытые антителами к CD2, CD3, CD28 человека. Для индукции лимфоцитов в фенотип Th17 в культуры вносили цитокины ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 (10 нг/мл). После инкубации оценивали количество Th17 как процент CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов, экспрессирующих транскрипционный фактор ROR- $\gamma$ t. Одновременно измеряли экспрессию маркера пролиферации Ki67 после пермеабиллизации клеток (реагенты «MiltenyiBiotec», Германия) методом проточной цитометрии.

Обнаружено, что под воздействием TCR-активатора и цитокинов (ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6) исходное количество Th17-клеток в контрольных пробах составляло 77,90 $\pm$ 8,30 % против 1,14 $\pm$ 0,97 (n=11) в пробах без активаторов. Установлено, что в присутствии АФП количество Th17 клеток (CD4<sup>+</sup>ROR $\gamma$ t<sup>+</sup>) не изменялось. Также не выявлено достоверных эффектов исследуемого белка на процентное содержание Ki67<sup>+</sup>, ROR $\gamma$ t+Ki67<sup>+</sup>, и ROR $\gamma$ t+Ki67<sup>-</sup> в популяции CD4<sup>+</sup> Т-клеток.

В целом, это говорит о том, что АФП не принимает участие в регуляции процессов пролиферации Th17, а также не влияет на дифференцировку этих клеток. По-видимому, отсутствие эффекта связано с особенностями устройства рецепторного аппарата для АФП на лимфоцитах. Можно предположить, что активированные Т-хелперы, индуцированные в фенотип Th17 не экспрессируют АФП-рецептор.

*Исследование поддержано грантом РФФИ, № 16-44-590971.*

#### **Библиографический список**

- 1) Terentiev A.A., Moldogazieva N.T. Alpha-fetoprotein: A renaissance // *Tumor Biol.* 2013. P. 2075-2091.
- 2) Santner-Nanan B., Peek M.J., Khanam R., Richarts L., Zhu E., Fazekas de St. Groth. B., Nanan R. Systemic increase in the ratio between Foxp3+ and IL-17-producing CD4+ T cells in healthy pregnancy but not in preeclampsia // *J. Immunol.* 2009. P. 7023–7030.
- 3) Saito S., Nakashima A., Shima T., Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2010. P. 601–610.
- 4) Xie Q., Wang S.C., Li J. IL-17: a potential therapeutic target for rheumatoid arthritis // *Clin Rheumatol.* 2012. P. 1145-1146.
- 5) Schumacher A., Costa S.D., Zenclussen A.C.. Endocrine factors modulating immune responses in pregnancy // *Front. Immunol.* 2014.

### **ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНА И МЕТОД ИХ КОРРЕКЦИИ**

Шафигуллина З.А.<sup>1,2</sup>, Данилова И.Г.<sup>1,2</sup>, Сенцов В.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Институт естественных наук и математики ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия*

<sup>2</sup> *ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии УрО РАН», г. Екатеринбург, Россия*

<sup>3</sup> *ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства Здравоохранения РФ, г. Екатеринбург, Россия*

Метаболические нарушения при действии тетрахлорметана (CCl<sub>4</sub>) способны изменять продукцию про- и противовоспалительных цитокинов клетками иммунной системы. Синусоидальные клетки (СК) печени, большую часть которых составляют макрофаги, играют важную роль, как в поддержании воспалительной реакции, так и в регуляции регенерации [1, 2]. Основными факторами, регулируемыми воспалительный процесс и регенерацию, являются цитокины, локально выделяющиеся клетками макрофагального ряда в очаг повреждения. Такие цитокины, как TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, ростовые факторы HGF, вырабатываемые синусоидальными клетками печени запускают сигнальные пути трансдукции репликации ДНК (STAT3, MAPK) [3]. Ростовые факторы PDGF, IGF-1, HGF, TGF- $\beta$ , синтезируемые синусоидальными клетками, снижают степень апоптоза гепатоцитов, уменьшают продукцию оксида азота и активных форм кислорода. Вышеперечисленные факторы способны усиливать межклеточные взаимодействия клеток печени, восстанавливать функциональную активность сохранившихся и вновь образованных гепатоцитов [4]. Поиск новых подходов терапии, способной приводить к модификации регенераторного потенциала органа, на сегодняшний день остается актуальной задачей.

Цель исследования: оценить локальный уровень цитокинов и роль синусоидальных клеток при токсическом повреждении печени и его коррекции.

Материалы и методы. Эксперимент по моделированию токсического гепатита был выполнен на 40 крысах-самцах линии Wistar массой 180 $\pm$ 10 г. в соответствии с принципами,

сформулированными в Директиве 2010/63/ЕС Европейского парламента и Европейского Совета от 22 сентября 2010 года о защите животных, используемых в научных целях (Официальный журнал Европейского союза, 2010 г.).

Были сформированы следующие экспериментальные группы животных: интактная,  $CCl_4$  3 сутки,  $CCl_4$  7 сутки,  $CCl_4$ , 14 сутки,  $CCl_4$  + АФГ 3 сутки,  $CCl_4$  + АФГ 7 сутки,  $CCl_4$  + АФГ 14 сутки. Для создания модели диффузного токсического повреждения печени использовали  $CCl_4$ , который вводили животным экспериментальных групп однократно внутрибрюшинно в дозе 50 мг/100 г массы тела. Инъекции аминофталгидразида (АФГ) экспериментальным животным осуществлялись в течении всего эксперимента внутримышечно из расчета 2 мг/кг. Животных опытных групп выводили из эксперимента на 3, 7 и 14 сутки передозировкой диэтилового эфира.

Подсчет количества СК ( $N/mm^2$ ) в ткани печени осуществляли при увеличении микроскопа  $\times 400$ . Данный показатель позволяет охарактеризовать вклад макрофагального звена иммунной системы в регенерацию печени при токсическом повреждении.

Содержание цитокинов в гомогенатах печени крыс определяли методом иммуноферментного анализа с использованием прибора Lazurite Automated ELISA System. Для оценки уровня цитокинов в плазме крови использовали наборы для ИФА фирмы Thermo Scientific: IL-1, IL-6, IL-10, IL-18, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1.

Статистическая обработка результатов эксперимента выполнена с применением Statistica 10.0. Для сравнения двух независимых групп использован непараметрический критерий Манна-Уитни. При проверке статистических гипотез использовался уровень значимости 5% ( $p < 0.05$ ).

Результаты. В соответствии с морфометрическими данными на 3 сутки после введения токсиканта отмечается достоверное увеличение количества СК с  $9,69 \pm 0,48$  кл\* $10/mm^2$  (интактная группа) до  $13,0 \pm 0,28$  кл\* $10/mm^2$ .

На 7 и 14 сутки после воздействия  $CCl_4$  наблюдается снижение числа СК не только относительно интактной группы, но и относительно группы  $CCl_4$ , 3 сутки до значения  $5,8 \pm 0,37$  кл\* $10/mm^2$  и  $5,3 \pm 1,25$  кл\* $10/mm^2$  соответственно.

Применение АФГ приводит к увеличению количества СК в печени на 3 сутки токсического воздействия, а на 7 и 14 сутки после терапии данный показатель снижается относительно 3 суток, но остается выше, чем в группах без лечения. Следовательно, есть основания полагать, что направленное воздействие на синусоидальные клетки посредством АФГ, способно изменить продукцию регуляторных факторов и компенсировать недостаточную скорость восстановительных процессов после токсического повреждения.

Изменение количества синусоидальных клеток печени при токсическом повреждении отражается на продукции цитокинов. После внутрибрюшинного введения  $CCl_4$ , в зависимости от продолжительности действия токсиканта, обнаружено увеличение концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 $\alpha$ , IL-6 и TNF- $\alpha$ , противовоспалительного медиатора IL-10 и снижение содержания TGF- $\beta$ .

Модуляция активности макрофагов приводит к увеличению концентрации IL-1 $\alpha$ , TGF- $\beta$  и способствует снижению продукции провоспалительных цитокинов IL-6, IFN- $\gamma$  на локальном уровне. При этом применение АФГ не оказывает существенного влияния на локальную концентрацию IL-18, TNF- $\alpha$  и IL-10.

Выводы. Повышенная продукция IL-1 $\alpha$  и IL-18 в гомогенатах печени при интоксикации  $CCl_4$ , по-видимому запускает локальное воспаление, повышая уровни таких цитокинов, как TNF- $\alpha$ , IL-6. Воздействие на синусоидальные клетки АФГ способствует повышению концентрации IL-1 $\alpha$ , TGF- $\beta$  и снижению уровня провоспалительных цитокинов IL-6, IFN- $\gamma$ .

Уточнение механизмов биологических эффектов АФГ на СК и продукцию цитокинов, а также поиск эффективных стимуляторов регенерации печени среди других модуляторов функции макрофагов является перспективным направлением исследования.

*Исследование проведено в рамках бюджетной программы № Гос. регистрации – АААА-А18-118020590107-0.*

### **Библиографический список**

1. Шафигуллина З. А., Медведева С. Ю. Данилова И. Г. Роль клеточного компонента стромы в компенсаторных процессах при диффузном повреждении печени. Токсикологический вестник. – 2018. – №3 (150). – С. 32–37.
2. Marrone G., Shah V. H., Gracia-Sancho J. Sinusoidal communication in liver fibrosis and regeneration. J Hepatol. – 2016. – Vol. 65. №3. – P. 608–617.
3. Gao B. Hepatoprotective and anti-inflammatory cytokines in alcoholic liver disease. J Gastroenterol Hepatol. – 2012. – P. 89–93.
4. Knolle P. A. Local control of the immune response in the liver. Immunol. Rev., 2000. – Vol. 174. – P. 21–34.

## СОДЕРЖАНИЕ

### СЕКЦИЯ I

#### МИКРОБИОЛОГИЯ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

<i>Андреева Д.С.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УСТОЙЧИВОСТИ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ <i>RHODOCOCCUS</i> SPP. К ИНДЕНУ.....	5
<i>Бажутин Г.А., Ширинкина Л.И., Тюмина Е.А.</i> БИОДЕСТРУКЦИЯ ФАРМПоллЮТАНТА ИБУПРОФЕНА .....	7
<i>Баркина И.А., Храмов П.В.</i> ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ ПОВЕРХНОСТИ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ МОЛЕКУЛАМИ БСА.....	8
<i>Безматерных К.В., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.</i> МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ РЕСВЕРАТРОЛА НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ <i>ESCHERICHIA COLI</i> К ЦЕФОТАКСИМУ.....	9
<i>Богущ Е.В.</i> ПРИМЕНЕНИЕ ИНДЕКСА КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ КИШЕЧНОГО МИКРОБОЦЕНОЗА У СЛУЖЕБНЫХ СОБАК ПОРОДЫ БЕЛЬГИЙСКАЯ ОВЧАРКА (МАЛИНУА).....	11
<i>Вахрушева Е.В., Соломенникова А.А., Писарева Т.А.</i> ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ КЛЕТОК РОДОКОККОВ С ЭЛЕКТРОДНЫМ МАТЕРИАЛОМ НА ОСНОВЕ ПЛАТИНЫ И РУТЕНИЯ, ПОЛУЧЕННЫМ МЕТОДОМ ВЫСОКОСКОРОСТНОГО ЛАЗЕРНОГО СИНТЕЗА.....	13
<i>Володченко В.Ф.</i> ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ И ПРОБИОТИКОВ В ОТНОШЕНИИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ.....	16
<i>Воропаева О.В., Седяева О.В., Малева М.Г., Борисова Г.Г.</i> СИЛИКАТНЫЕ БАКТЕРИИ СПОСОБНЫ СТИМУЛИРОВАТЬ РОСТ РАСТЕНИЙ.....	18
<i>Гольшиева А.А., Тищенко А.В.</i> НЕКОТОРЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОДОКОККИ.....	20
<i>Данилова А.А.</i> БИОРЕМЕДИАЦИЯ НЕФТЕЗЯГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ, ОТОБРАННЫХ В ДОЛИНЕ РЕКИ ЯСЫЛ, В МОДЕЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ.....	22
<i>Жемчужева Д.А., Катаева Е.И.</i> УСТОЙЧИВОСТЬ К ЦЕФАЛОСПОРИНАМ У МОЧЕВЫХ ИЗОЛЯТОВ <i>ESCHERICHIA COLI</i> , ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ АМБУЛАТОРНЫХ ПАЦИЕНТОВ Г. ЧЕЛЯБИНСК.....	24
<i>Загуляева И.Ю.</i> АНАЛИЗ СОПРЯЖЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РОДОКОККОВ К АВИАЦИОННОМУ ТОПЛИВУ И АНТИБИОТИКАМ.....	26
<i>Ишмухаметов И.Р., Фахруллина Г.И., Нигаматзянова Л.Р., Фахруллин Р.Ф.</i> ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОКСИДА ГРАФЕНА.....	28
<i>Камалиева Р.Ф., Данилушкина А.А., Ишмухаметов И.Р., Фахруллин Р.Ф., Рожина Э.В.</i> ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ НАНОГЛИН ТРУБЧАТОЙ ФОРМЫ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ, ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ, СТАРЕНИЕ И ГИБЕЛЬ ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК.....	30
<i>Картагена Г.А.д.П., Тюмина Е.А., Ившина И.Б.</i> БИОДЕСТРУКЦИЯ ДИКЛОФЕНАКА НАТРИЯ АКТИНОБАКТЕРИЯМИ.....	31
<i>Кирьянова Т.Д., Егорова Д.О.</i> НОВЫЕ ШТАММЫ-ДЕСТРУКТОРЫ МОНОХЛОРИРОВАННЫХ БИФЕНИЛОВ.....	33
<i>Князева Е.В.</i> КАЧЕСТВО ВОДЫ В ИСТОЧНИКАХ ПИТЬЕВОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ Д. ВАРНАКИ И Г. НОЛИНСКА (НОЛИНСКИЙ РАЙОН, КИРОВСКАЯ ОБЛАСТЬ).....	35
<i>Коряков И.С.</i> ВЛИЯНИЕ ИНОКУЛЯЦИИ ГОРОХА ЭНДОФИТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ НА РОСТ, КЛУБЕНЬКООБРАЗУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ.....	39

<i>Кулабухова Д.Ю., Шаяхметова А.С., Коряков И.С., Собхани М., Пусенкова Л.И., Гарипова С.Р., Ласточкина О.В.</i> ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА РАЗВИТИЕ ПОСЛЕУБОРОЧНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ( <i>PHYTOPHTORA INFESTANS</i> И <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> ) КАРТОФЕЛЯ ПРИ ХРАНЕНИИ. ....	41
<i>Кулакова М.В., Полюдова Т.В.</i> ДЕЙСТВИЕ ПАРОВ ЭФИРНОГО МАСЛА БЕРГАМОТА НА БАКТЕРИИ И ПРОРАСТАНИЕ СПОР ПЛЕСЕНИ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВОЗДУХА ЗАКРЫТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ. ....	42
<i>Куприянова Е.А., Хуснутдинова Д.Р.</i> МИКРОБИОТА КИШЕЧНИКА ЧЕЛОВЕКА: МЕТАГЕНОМ ПРИ ПЕРСИСТЕНЦИИ <i>H. PYLORI</i> . ....	45
<i>Лаврикова А.Л., Шегина Е.С., Ахова А.В., Ткаченко А.Г.</i> СКРИНИНГ ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ <i>ESCHERICHIA COLI</i> НА СПОСОБНОСТЬ ДЕКАРБОКСИЛИРОВАТЬ АМИНОКИСЛОТЫ. ....	46
<i>Литасова А.С., Жуков И.В., Максимов А.Ю.</i> , РАЗРАБОТКА ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ ИХТИОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ РОДА <i>FLAVOBACTERIUM</i> . ....	48
<i>Лучникова Н.А., Мальцева П.Ю., Гришко В.В., Ившина И.Б.</i> , ПОИСК ШТАММОВ – АКТИВНЫХ БИОТРАНСФОРМАТОРОВ ОЛЕАНОЛОВОЙ КИСЛОТЫ. ....	50
<i>Макарова М.В.</i> ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ НА КЛЕТОЧНЫЙ ЗАРЯД РОДОКОККОВ. ....	51
<i>Маммаева М.Г., Коноплева М.А., Нестерова Л.Ю., Кузнецова М.В.</i> , УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ И СОЛЯМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ СТАФИЛОКОККОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ НАЗЕМНЫХ СОЛЯНЫХ СООРУЖЕНИЙ. ....	54
<i>Мулазянова Э.Э., Максимова Ю.Г.</i> ВЛИЯНИЕ pH И КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРИДА НАТРИЯ НА РОСТ НИТРИЛГИДРОЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ГРУНТА ТЕРРИТОРИЙ СТАРОГО СОДОВОГО ШЛАМОХРАНИЛИЩА. ....	56
<i>Надырова А.И., Сурченко Ю.В., Ульянов В.В.</i> ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ РИБОНУКЛЕАЗЫ <i>BACILLUS LICHENIFORMIS</i> И ОЦЕНКА ЕЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ. ....	58
<i>Негорелова Е.В., Нестерова Л.Ю., Ткаченко А.Г.</i> , ВЛИЯНИЕ БИОГЕННЫХ ПОЛИАМИНОВ НА МЕЖКЛЕТОЧНУЮ КОММУНИКАЦИЮ БАКТЕРИЙ. ....	59
<i>Нигаматзянова Л.Р., Фахруллина Г.И., Шайхулова С.Ф., Ахатова Ф.С., Фахруллин Р.Ф.</i> ИЗУЧЕНИЕ СИМБИОТИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕФТЕРАЗЛАГАЮЩИХ БАКТЕРИЙ <i>ALCANIVORAX BORKUMENSIS</i> И ПОЧВЕННЫХ НЕМАТОД <i>CAENORHABDITIS ELEGANS</i> В СИСТЕМЕ ХОЛОБИОНТА. ....	61
<i>Полушкина Н.В., Ерошенко Д.Е.</i> КИНЕТИКА РОСТА <i>M. SMEGMATIS</i> MC2 155 И ЕГО МУТАНТОВ ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ. ....	63
<i>Пьянкова А.А., Кашапова Л.Э., Плотникова Е.Г.</i> , БАКТЕРИИ ГЛУБИННОЙ ПОРОДЫ КАМЕННОЙ СОЛИ (ВЕРХНЕКАМСКОЕ МЕСТОРОЖДЕНИЕ СОЛЕЙ)	65
<i>Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.</i> ВЛИЯНИЕ СОСТАВА СРЕДЫ НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ КИШЕЧНЫХ БАКТЕРИЙ В ПРИСУТСТВИИ ПОЛИФЕНОЛОВ. ....	67
<i>Степанова Н.Н.</i> РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ БИОСИНТЕЗА ПАЛЬМИТОЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДРОЖЖЕВЫХ ОРГАНИЗМОВ. ....	68
<i>Кузнецов К.В., Сутормина Л.В., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.</i> ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЛУТАТИОНА ПРИ ДЕЙСТВИИ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА И ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА НА РАСТУЩИЕ БАКТЕРИИ <i>ESCHERICHIA COLI</i> . ....	70



Тарасова И.А. ПОВЫШЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ <i>ESCHERICHIA COLI</i> К ПОЛИМИКСИНАМ. ....	72
Томилова Н.С., Баландина С.Ю. ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ ПРОДУЦЕНТОВ-МИКРОМИЦЕТОВ, ГИДРОЛИЗИРУЮЩИЕ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНЫЙ КОМПЛЕКС ПОВЕРХНОСТНЫМ КУЛЬТИВИРОВАНИЕМ. ....	74
Томилова Н.С., Баландина С.Ю., Максимов А.Ю. ЛИГНОЛИТИЧЕСКАЯ СПОСОБНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ ПО ОТНОШЕНИЮ К КОРОДРЕВЕСНЫМ ОТХОДАМ. ....	76
Тюленев А.В., Смирнова Г.В., Безматерных К.В., Октябрьский О.Н. ПРОДУКЦИЯ СУЛЬФИДА ВОДОРОДА БАКТЕРИЯМИ <i>ESCHERICHIA COLI</i> ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СТРЕССАХ. ....	78
Ушаков В.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н. ПРОДУКЦИЯ $H_2S$ БАКТЕРИЯМИ <i>ESCHERICHIA COLI</i> ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ. ....	79
Фахруллина Г.И., Нигаматзянова Л.Р., Шайхулова С.Ф., Ишмухаметов И.Р., Ахатова Ф.С. ИЗУЧЕНИЕ ТРОФИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ СВОБОДНОЖИВУЩЕЙ НЕМАТОДЫ <i>CAENORHABDITIS ELEGANS</i> С НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ <i>ALCANIVORAX BORKUMENSIS</i> В ПРИСУТСТВИИ СЫРОЙ НЕФТИ. ....	80
Хайбуллин Р.Г. ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ОБРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ НА КОЛИЧЕСТВО ЭКСТРАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ФЕРМЕНТИРОВАННОЙ БИОМАССЕ. ....	81
Халитова А.И., Максимов А.Ю., БИОКАТАЛИТИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ НИТРОСОЕДИНЕНИЙ И ПРОИЗВОДНЫХ ХИНОЛИНА. ....	83
Хаова Е.А., Ткаченко А.Г., РОЛЬ ГЕНОВ ПОЛИАМИНОВОГО МОДУЛОНА В ФОРМИРОВАНИИ ПЕРСИСТОРНОГО СОСТОЯНИЯ <i>ESCHERICHIA COLI</i> . ....	85
Худеева В.М. ДИНАМИКА СОВМЕСТНОГО РОСТА СИМБИОНТОВ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА <i>CUTIBACTERIUM ACNES</i> И <i>STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS</i> . ....	87
Хумуд Б.М.Х., Куцев Д.С., Подсевалов С.Д. ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРЯМОГО ОРГАНОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ ЗРЕЛЫХ ЗАРОДЫШЕЙ КУКУРУЗЫ. .	89
Цыганов И.В., Максименко Н.А., Нестерова Л.Ю., Ткаченко А.Г., СКОЛЬЖЕНИЕ КАК ИНДИКАТОР СТРЕССОРНЫХ СОСТОЯНИЙ МИКОБАКТЕРИЙ. ....	91
Шайхулова С.Ф. БАКТЕРИИ <i>ALCANIVORAX BORKUMENSIS</i> И НЕМАТОДЫ <i>TURBATRIX ACETI</i> В МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ «ХОЗЯИН-МИКРОФЛОРА». ....	93
Шаравин Д.Ю., Беляева П.Г. ПСИХРОФИЛЬНЫЕ МЕТИЛОБАКТЕРИИ АНТАРКТИКИ И ПРИПОЛЯРНОГО УРАЛА. ....	96
Шаяхметова А.С., Кулабухова Д.Ю., Коряков И.С., Пусенкова Л.И., Гарипова С.Р., Ласточкина О.В., ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ <i>VACILLUS SUBTILIS</i> НА РОСТ И УСТОЙЧИВОСТЬ <i>TRITICUM AESTIVUM</i> L. (ПШЕНИЦЫ) И <i>RHASEOLUS VULGARIS</i> (ФАСОЛИ) К ДЕФИЦИТУ ВЛАГИ. ....	98
Шилова А.В., Халитова А.И., Максимов А.Ю., Щетко В.А. ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦЕЛЛЮЛОЛИТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ КОРОДРЕВЕСНЫХ ОТХОДОВ. ....	99
Ширяева Е.Н., Криворучко А.В., Фишер С., Ившина И.Б., РАЗРАБОТКА МЕТОДА САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКОГО МУТАГЕНЕЗА АКТИНОБАКТЕРИЙ РОДА <i>RHODOCOCCUS</i> . ....	102
Юдин Д.С., Ястребова О.В., Плотникова Е.Г., ХАРАКТЕРИСТИКА ГАЛОТОЛЕРАНТНОГО ШТАММА <i>ARTHROBACTER</i> SP. SF27, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ РАЙОНА СОЛЕРАЗРАБОТОК (ПЕРМСКИЙ КРАЙ). ....	103

## СЕКЦИЯ II

### БОТАНИКА, ГЕНЕТИКА И ЭКОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

<i>Багаутдинова Н.А., Ястребова О.В., Плотникова Е.Г.</i> , ГАЛОТОЛЕРАНТНЫЙ ШТАММ <i>MARTELELLA</i> SP. PSH17-52 – АКТИВНЫЙ ДЕСТРУКТОР ФТАЛАТОВ. . . . .	105
<i>Бересневич С.И.</i> ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ <i>ALLIUM SATIVUM</i> L. В ПЕРМСКОМ КРАЕ. . . . .	107
<i>Берсенева Ю.Н., Бельтюкова Н.Н., Ульянов В.А., Бейшова И.С., Султангазина Г.Ж., Бейшов Р.С.</i> МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ <i>ADONIS VERNALIS</i> L. СЕВЕРНОГО КАЗАХСТАНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЖМИКРОСАТЕЛЛИТНОГО АНАЛИЗА ДНК. . . . .	109
<i>Бурдаков В.А.</i> ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ IN VITRO НЕКОТОРЫХ СОРТОВ <i>SYRINGA VULGARIS</i> L. . . . .	111
<i>Валиуллина А.Р.</i> ФЕРТИЛЬНОСТЬ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ПЫЛЬЦЫ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>IRIS</i> L. В УЧЕБНОМ БОТАНИЧЕСКОМ САДУ ПГНИУ	112
<i>Васильева Ю.С., Чертов Н.В., Пришвинская Я.В., Жуланов А.А.</i> ВНУТРИВИДОВАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ЗАПАДНОЙ РАСЫ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ ( <i>LARIX SIBIRICA</i> LEDEB.) НА УРАЛЕ. . . . .	114
<i>Вороно А.В.</i> ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ <i>ACE</i> И <i>ADRB1</i> У ЕДИНОБОРЦЕВ РАЗНОЙ КВАЛИФИКАЦИИ Г. ПЕРМИ. . . . .	116
<i>Жуланов А.А.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ЗАПАДНОЙ РАСЫ <i>L. SIBIRICA</i> С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ. . . . .	118
<i>Истомина А.В., Корсакова Е.С., Плотникова Е.Г.</i> , ШТАММ-ДЕСТРУКТОР АРОМАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ <i>PSEUDOMONAS</i> SP. KT1.311. . . . .	120
<i>Каракулова Ю.С.</i> АНАЛИЗ ФЛОРЫ ООПТ «АНДРОНОВСКИЙ ЛЕС» Г.ПЕРМЬ. . . . .	122
<i>Карбышева К.С., Мурина Е.А.</i> АНАЛИЗ БИОГЕОГРАФИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ БАЗИДИОМИЦЕТА <i>SUILLUS SIBIRICUS</i> , ОБРАЗУЮЩЕГО ЭКТОМИКОРИЗУ С <i>PINUS SIBIRICA</i> DU TOUR, НА ОСНОВЕ СИКВЕНСОВ КЛАСТЕРА РИБОСОМАЛЬНЫХ ГЕНОВ ДНК. . . . .	123
<i>Кардакова В.М.</i> МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ <i>PPARG</i> И <i>ADRB1</i> У ДЗЮДОИСТОВ Г. ПЕРМИ. . . . .	125
<i>Кетова М.В.</i> АНАЛИЗ ФЛОРЫ ООПТ «ЛИПОГОРСКИЙ» (ПЕРМСКИЙ КРАЙ). . . . .	128
<i>Ковыляева Е.В.</i> БИОРАЗНООБРАЗИЕ РАСТЕНИЙ ООПТ «БУЖДОМСКИЙ ЕЛЬНИК». . . . .	130
<i>Мартыненко Н.А., Боронникова С.В., Гусев Е.С.</i> ПЕРВЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ КРИПТОФИТОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ ПЕРМСКОГО КРАЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ. . . . .	132
<i>Меркулов А.Д.</i> ГУСТОТА МИКРОЦЕНОЗОВ СОСНЫ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ НА НАПОЧВЕННЫЙ ПОКРОВ. . . . .	133
<i>Нассонова Е.С.</i> МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ПОПУЛЯЦИЙ <i>P. SYLVESTRIS</i> L. В КИРОВСКОЙ ОБЛАСТИ И ПЕРМСКОМ КРАЕ. . . . .	136
<i>Пашова Ю.С.</i> БИОРАЗНООБРАЗИЕ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ ООПТ «ШЛЮПИНСКИЙ КАМЕНЬ» (ПЕРМСКИЙ КРАЙ). . . . .	138
<i>Пелева А.Р., Комарова Л.В.</i> АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РЕМОНТНО-МАТОЧНОГО СТАДА ОСЕТРА СИБИРСКОГО ( <i>ACIPENSER BAERII</i> BRANDT) НА ОСНОВАНИИ ПОЛИМОРФИЗМА МЕЖМИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ. . . . .	140
<i>Полковникова А.Ю.</i> МАКРОМИЦЕТЫ ООПТ «БОТАНИЧЕСКИЙ САД ПГУ». . . . .	142
<i>Попкова А.С.</i> РАЗМНОЖЕНИЕ НЕКОТОРЫХ СОРТОВ ЛИЛИЙ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO. . . . .	144

<i>Пришивская Я.В., Васильева Ю.С., Чертов Н.В., Жуланов А.А.</i> АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПОПУЛЯЦИЙ <i>LARIX SIBIRICA</i> LEDEB. НА УРАЛЕ. ....	146
<i>Пришивская Я.В.</i> ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И МЕЖПОПУЛЯЦИОННАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ <i>PINUS SYLVESTRIS</i> L. НА ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ РАВНИНЕ. ....	148
<i>Тиунов Д.Н.</i> АНАЛИЗ ФЛОРЫ СОСУДИСТЫХ РАСТЕНИЙ ООПТ «ЛИПОВАЯ ГОРА» (ПЕРМСКИЙ КРАЙ). ....	150
<i>Томилова Ю.О., Бельтюкова Н.Н., Ульянов В.А., Бейшова И.С., Султангазина Г.Ж., Бейшов Р.С.</i> МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОФОНДОВ ЦЕНОПОПУЛЯЦИЙ <i>ADONIS WOLGENSIS</i> STEV. СЕВЕРНОГО КАЗАХСТАНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ISSR-МЕТОДА. ....	152
<i>Тутынин А.Н.</i> АНАЛИЗ АДВЕНТИВНЫХ И СИНАНТРОПНЫХ РАСТЕНИЙ НА ООПТ «УТИНОЕ БОЛОТО» И ООПТ «НОВОКРЫМСКИЙ ПРУД». ....	153
<i>Усанина В.А.</i> АДВЕНТИВНЫЕ ВИДЫ РАСТЕНИЙ ВО ФЛОРЕ ПОС. КУЕДА И ЕГО ОКРЕСТНОСТЕЙ (ПЕРМСКИЙ КРАЙ). ....	155
<i>Чемарова Т.Д.</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛУБНЕПОЧЕК ПРИ МИКРОКЛОНАЛЬНОМ РАЗМНОЖЕНИИ СОРТОВ ГЛАДИОЛУСА ( <i>GLADIOLUS X HYBRIDUS</i> HORT.) СЕЛЕКЦИИ УЧЕБНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА ПГНИУ. ....	157
<i>Чертов Н.В., Васильева Ю.С., Пришивская Я.В., Жуланов А.А.</i> АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ДНК ЗАПАДНОЙ РАСЫ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ ( <i>LARIX SIBIRICA</i> LEDEB.) НА УРАЛЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ISSR-МЕТОДА. ....	159
<i>Шакирова А.Р.</i> МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ РОДА <i>PULSATILLA</i> MILL. ПЕРМСКОГО КРАЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ ISSR-МЕТОДА. ....	161
<i>Шакирова А.Р.</i> ПОДБОР ЭФФЕКТИВНЫХ ISSR-ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ <i>PULSATILLA FLAVESCENS</i> (ZUCC.) JUZ. И <i>PULSATILLA PATENS</i> (L.) MILL. ....	162

### **СЕКЦИЯ III ЗООЛОГИЯ**

<i>Агафонова О.В.</i> СТРУКТУРА ФАУНЫ ПАУКОВ (ARANEI) МОРДОВСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО ЗАПОВЕДНИКА. ....	165
<i>Бакланова А.С.</i> НОВЫЕ ДАННЫЕ О РУКОКРЫЛЫХ ЗАКАЗНИКА «ПРЕДУРАЛЬЕ». ....	166
<i>Беляев К.А.</i> БИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЯ ОБЫКНОВЕННОЙ БЕЛКИ ( <i>SCIURUS VULGARIS</i> ) В УСЛОВИЯХ ООПТ «ЧЕРНЯЕВСКИЙ ЛЕС» И ГОРОДА ПЕРМЬ. ....	168
<i>Бульчева Е.Г.</i> ФАУНА И ЭКОЛОГИЯ НОЧНЫХ РАЗНОУСЫХ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ (LEPIDOPTERA, HETEROCERA) ТРОИЦКОГО ЗАКАЗНИКА. ....	170
<i>Булэу О.Г.</i> ЭВОЛЮЦИЯ НЕО-XX/НЕО-ХУСИСТЕМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛА У САРАНЧОВЫХ СЕМЕЙСТВА RAMPHAGIDAE (ORTHOPTERA, ACRIDOIDEA). ...	172
<i>Галиулин Д.М., Четанов Н.А.</i> ВЗАИМОСВЯЗЬ ВНЕШНИХ ТЕМПЕРАТУР С ТЕМПЕРАТУРАМИ РАЗЛИЧНЫХ УЧАСТКОВ ТЕЛА У РЕПТИЛИЙ (НА ПРИМЕРЕ ОБЫКНОВЕННОЙ ГАДЮКИ). ....	174
<i>Гончаренко А.А.</i> МИКРОЭВОЛЮЦИОННЫЕ ПРОЦЕССЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ БЕЗНАДЗОРНЫХ СОБАК НЕКОТОРЫХ РЕГИОНОВ ВЬЕТНАМА НА ПРИМЕРЕ МУТАЦИИ «РИДЖ». ....	177
<i>Ишимникова Н.Д.</i> ПАРАЗИТОФАУНА БЕЛОМОРСКОЙ ПРИБРЕЖНОЙ ТРЕСКИ <i>GADUS MORHUA MARIS-ALBI</i> . ....	179
<i>Ишимова Л.Р.</i> К ИЗУЧЕНИЮ ФАУНЫ БУЛАВОУСЫХ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ ТРОИЦКОГО ЗАКАЗНИКА. ....	180

<i>Канафина М.М.</i> МОРФОЛОГИЯ ПОСТААНУЛЯРНОГО ОТДЕЛА <i>NEREILINUM MURMANICUM</i> (IVANOV, 1961) (ROGONOPHORA: FRENULATA). . . . .	183
<i>Ложкина Е.Н.</i> МОРФОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КРАСНОПЕРКИ <i>SCARDINIUS ERYTHROPHTHALMUS</i> ВОТКИНСКОГО ВОДОХРАНИЛИЩА. . . . .	185
<i>Меркушева Е.С.</i> АНТОФИЛЬНЫЕ НАСЕКОМЫЕ ЛЕСОСТЕПНОЙ ЗОНЫ ЮЖНОГО ЗАУРАЛЬЯ. . . . .	187
<i>Овчанкова Н.Б.</i> ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И ПРОИСХОЖДЕНИЕ МАЛАКОФАУН РЕЧНЫХ БАССЕЙНОВ ВОСТОЧНО-ЕВРОПЕЙСКОЙ РАВНИНЫ И УРАЛА. . . . .	188
<i>Перминова В.В., Бабкина И.Б.</i> СОСТАВ ИХТИОФАУНЫ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОГО ОЗЕРА В НИЖНЕВАРТОВСКОМ РАЙОНЕ ХМАО-ЮГРЫ. . . . .	191
<i>Петрова Т.С., Радостева Е.М.</i> АНАЛИЗ ВЫРАЩИВАНИЯ МОЛОДИ КАРПА В УСЛОВИЯХ ПОЛНОСИСТЕМНОГО РЫБОВОДНОГО ХОЗЯЙСТВА. . . . .	192
<i>Попова К.В.</i> ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ САРАНЧОВЫХ (INSECTA: ORTHOPTERA: ACRIDOIDEA) В СЕВЕРНОЙ И ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ КУЛУНДИНСКОЙ РАВНИНЫ. . . . .	194
<i>Романов Е.А.</i> СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА НЕМЕЦКИХ И БЕЛЬГИЙСКИХ ОВЧАРОВ СЛУЖЕБНОГО НАЗНАЧЕНИЯ. . . . .	196
<i>Селезнева А.А.</i> ПАРАЗИТЫ АКВАРИУМНЫХ РЫБ В УСЛОВИЯХ ПОЛНОСИСТЕМНОГО БАССЕЙНОВОГО ХОЗЯЙСТВА. . . . .	198
<i>Смыков В.Ю.</i> ФАКТОРЫ, ПРОВОЦИРУЮЩИЕ ПРОЯВЛЕНИЕ АГРЕССИИ НА ЧЕЛОВЕКА У СЛУЖЕБНЫХ СОБАК. . . . .	199
<i>Стольников П.А.</i> К ИЗУЧЕНИЮ ФАУНЫ И ЭКОЛОГИИ СЛЕПНЕЙ (DIPTERA, TABANIDAE) ТРОИЦКОГО ЗАКАЗНИКА. . . . .	202
<i>Сухорукова Д.А.</i> УЧЕТЫ КОРОСТЕЛЯ НА ТЕРРИТОРИИ ЗАКАЗНИКА «ПРЕДУРАЛЬЕ». . . . .	205

#### **СЕКЦИЯ IV**

##### **ЭКОФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ЭКОЛОГИЯ ПОЧВ**

<i>Андросова Ю.В., Еранкин К.О.</i> ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПОЧВЫ ПАРАЗИТАМИ В ПЕРМСКОМ КРАЕ. . . . .	207
<i>Арисова А.К.</i> РАЗДЕЛЬНОЕ И КОМБИНИРОВАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ NaCl-ЗАСОЛЕНИЯ И pH УРОВНЯ КОРНЕВОЙ СРЕДЫ НА ОБЩЕЕ СОДЕРЖАНИЕ И ВОССТАНОВИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ГЛУТАТИОНА В КРЕСС-САЛАТЕ. . . . .	208
<i>Боталова К.И.</i> СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА А И В В РАСТЕНИЯХ <i>TRITICUM AESTIVUM</i> L. И <i>SECALE CEREALE</i> L. В УСЛОВИЯХ КИСЛОЙ И ЩЕЛОЧНОЙ ПОЧВЕННОЙ СРЕДЫ. . . . .	212
<i>Горлова А.Д.</i> ВЛИЯНИЕ КОРОДРЕВЕСНЫХ ОТХОДОВ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРИДОРОЖНЫХ ТЕХНОГЕННЫХ ПОВЕРХНОСТНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ. . . . .	213
<i>Карташова И.Н.</i> СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ИСТОЧНИКАХ ПРОПОЛИСА УМЕРЕННОЙ ПРИРОДНОЙ ЗОНЫ. . . . .	215
<i>Колбик А.Е.</i> ИЗМЕНЕНИЕ ВЫСОТЫ И МАССЫ РАСТЕНИЙ РЖИ ОЗИМОЙ ПРИ ЗАСОЛЕНИИ И ОЩЕЛАЧИВАНИИ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛЬНОГО ОПЫТА. . . . .	218
<i>Липин И.Н.</i> СВОЙСТВА ПОЧВ НА КАРБОНАТНЫХ И СУЛЬФАТНЫХ ПОРОДАХ ООПТ «ЛУНЕЖСКИЕ ГОРЫ». . . . .	219
<i>Моисеева А.А., Кармацких А.А., Моисеева К.В.</i> ФОТОСИНТЕЗ ЛИСТЬЕВ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ. . . . .	222

<i>Пахоруков И.В.</i> СВОЙСТВА ПОЧВ, НАХОДЯЩИХСЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЛЕННЫХ ВОД, ИЗЛИВАЮЩИХСЯ ИЗ РАССОЛОПОДЪЕМНЫХ СКВАЖИН . . .	224
<i>Плотников Д.С., Тугбаева А.С., Ермошин А.А.</i> ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ <i>ZINNA ELEGANS</i> НА ДЛИТЕЛЬНЫЙ СОЛЕВОЙ СТРЕСС. . . . .	225
<i>Сапцын Р.В., Устюжанцев М.В., Алимова Г.С.</i> СОДЕРЖАНИЕ РАДИОНУКЛИДОВ В ПОЧВАХ АНТРОПОГЕННО-ИЗМЕНЕННЫХ ФИТОЦЕНОЗОВ И РЕЧНЫХ ДОЛИН ТОБОЛЬСКОГО И ВАГАЙСКОГО РАЙОНОВ ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ. .	227
<i>Ступалова А.Н.</i> СВОЙСТВА ПОЧВ ООПТ «ЧЕРНЯЕВСКИЙ ЛЕС» ВБЛИЗИ АВТОМАГИСТРАЛЕЙ. . . . .	230
<i>Тугбаева А.С., Ермошин А.А., Плотников Д.С.</i> ХЛОРИДНОЕ ЗАСОЛЕНИЕ ВЛИЯЕТ НА ЛИГНИФИКАЦИЮ ПОБЕГОВ ЦИНИИ. . . . .	232
<i>Устинова К.И.</i> НАКОПЛЕНИЕ ПРОЛИНА В ЛИСТЬЯХ ОВСА ПОСЕВНОГО В СВЯЗИ С АДАПТАЦИЕЙ К ПОВЫШЕННОМУ СОДЕРЖАНИЮ СОЛЕЙ И РАЗНОМУ рН-УРОВНЮ В ПОЧВЕ. . . . .	234
<i>Чернышева Ю.Д.</i> ДИНАМИКА КАДМИЕВОЙ УСТОЙЧИВОСТИ И УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ПРОРОСТКОВ ОВСА В УСЛОВИЯХ ПРЕДОБРАБОТКИ ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРОЙ И ЭКЗОГЕННЫМ КАЛЬЦИЕМ. . . . .	237

## **СЕКЦИЯ V**

### **ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ И ПРИКЛАДНАЯ МЕДИЦИНА, ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА, ИММУНОЛОГИЯ**

<i>Бабичук А.А., Белкина Ю.А.</i> ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫЕ ЭФФЕКТЫ ХОЛОДОВОГО СТРЕССА. . . . .	239
<i>Бриллиант С.А.</i> ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВ ЭРИТРОЦИТОВ КОСТНОГО МОЗГА И ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ. . . . .	240
<i>Валиева Ю.В., Куклина Е.М.</i> ДЛЯ ЧЕГО ИММУННЫМ КЛЕТКАМ НУЖНЫ ПЛЕКСИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ SEMA4D?. . . . .	242
<i>Владимирская М.В.</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ «WATER POWER» В ЛЕЧЕНИИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА. . . . .	244
<i>Власова А.А.</i> ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ПРИ ВВЕДЕНИИ ЖЕЛЕЗОУГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦ. . . .	246
<i>Власова В.В.</i> ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРОЛИФЕРАЦИИ И АПОПТОЗА АКТИВИРОВАННЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ. . . . .	247
<i>Глебездина Н.С.</i> РЕЦЕПТОР-ЗАВИСИМЫЕ И НЕЗАВИСИМЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ ЭФФЕКТОВ МЕЛАТОНИНА. . . . .	249
<i>Житкова В.С.</i> ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ ВИДОВ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗОК НА ЛИМФОИДНЫЕ ОРГАНЫ КРЫС НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТА МИЛДРОНАТ. . . . .	251
<i>Иванов Я.Н., Чудинов В.С., Шардаков И.Н., Чудинова Е.Ю., Кондюрин А.В.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕВОЙ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА НА ПОЛИУРЕТАНОВЫЙ ИМПЛАНТАТ, МОДИФИЦИРОВАННЫЙ ИОННО-ПЛАЗМЕННЫМ МЕТОДОМ. . . . .	252
<i>Кадочникова Я.А.</i> ВЛИЯНИЕ ЭНДОМОРФИНА 1 И 2 НА КИСЛОРОДЗАВИСИМУЮ МИКРОБИЦИДНОСТЬ ЛЕЙКОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ. . . . .	254
<i>Калашишникова Т.В., Баркина И.А., Кропанева М.Д., Храмов П.В.</i> СИНТЕЗ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ РЕАГЕНТОВ НА ОСНОВЕ АЛЬБУМИНОВЫХ НАНОЧАСТИЦ. . . . .	255

<i>Калугина А.П., Заморина С.А., Тимганова В.П., Бочкова М.С.</i>	
ИММУНОРЕГУЛЯТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО V1 – ГЛИКОПРОТЕИНА НА СУБПОПУЛЯЦИЮ Т-ХЕЛПЕРОВ 17. ....	256
<i>Карпенко В.Н., Усачёв В.А.</i> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННОГО АУТОТРАНСПЛАНТАТА ДЛЯ УСКОРЕННОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ. ....	257
<i>Коньшева А.В., Ерошенко Д.В., Гришко В.В.</i> ЛУПАНОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ БЕТУЛИНА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ АГЕНТЫ. ....	259
<i>Кочурова С.В., Тимганова В.П., Бочкова М.С., Заморина С.А.</i> , РОЛЬ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО V1-ГЛИКОПРОТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ ПЕРЕХОДА НАИВНЫХ Т-КЛЕТОК В ЭФФЕКТОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ ИММУННОЙ ПАМЯТИ. ...	261
<i>Кузнецова Ю.Н.</i> ДЛИТЕЛЬНОЕ БАКТЕРИОФАГАЛЬНОЕ ИНФИЦИРОВАНИЕ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА КРЫС СНИЖАЕТ ЭКСПРЕССИЮ АЛЬФА-СИНУКЛЕИНА В КЛЕТКАХ ПАНЕТА. ....	262
<i>Кропанева М.Д., Храмов П.В., Раев М.Б.</i> ИММУНОДИАГНОСТИКА С ПРИМЕНЕНИЕМ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ. ....	263
<i>Орлова Е.Г., Ширшев С.В., Логинова О.А., Логинова Н.П., Шехмаматьев Р.М.</i> ГРЕЛИН РЕГУЛИРУЕТ ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ ДЕНДРИТНЫМИ КЛЕТКАМИ ТИМУСА. ....	265
<i>Семёновых Е.А.</i> ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА КАК ПРЕДИКТОРЫ ГИПЕРКОАГУЛЯЦИИ. ....	267
<i>Столетняя А.Е.</i> СУБЪЕКТИВНОЕ ВОСПРИЯТИЕ ВРЕМЕНИ ШКОЛЬНИКАМИ. ...	269
<i>Усачёв В.А., Карпенко В.Н.</i> ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У КРЫС ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩИХ ТРАНСПЛАНТАТОВ ПОЗВОНКА. ....	270
<i>Фахруллина Г.И., Хакимова Э.И., Ахатова Ф.С., Коннова С.А.</i> ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОГО ЭФФЕКТА НАНОКОНТЕЙНЕРОВ ГАЛЛУАЗИТ-КУРКУМИН-ДЕКСТРИН С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ В КАЧЕСТВЕ МОДЕЛЬНОГО ОРГАНИЗМА НЕМАТОД TURBATRIX ACETI. ....	272
<i>Фомичева К.А., Заморина С.А.</i> ВЛИЯНИЕ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА НА КОНВЕРСИЮ НАИВНЫХ Т-ХЕЛПЕРОВ В ЭФФЕКТОРНЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ Т-КЛЕТОК ПАМЯТИ. ....	273
<i>Шардина К.Ю., Заморина С.А., Тимганова В.П., Бочкова М.С., Черешнев В.А.</i> , РОЛЬ АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИНА В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ Т-ХЕЛПЕРОВ 17 ТИПА (TH17). ....	275
<i>Шафигуллина З.А., Данилова И.Г., Сенцов В.Г.</i> ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЕТРАХЛОРМЕТАНА И МЕТОД ИХ КОРРЕКЦИИ. ....	276

*Научное издание*

## **СИМБИОЗ-РОССИЯ 2019**

Материалы XI Всероссийского конгресса молодых ученых-биологов  
с международным участием  
(Пермь, 13–15 мая 2019 г.)

Публикуется в авторской редакции  
Компьютерная верстка *А. Б. Крашенинникова*

Подписано в печать 08.05.2019. Формат 60×84/8.  
Усл. печ. л. 33,36. Тираж 150 экз. Заказ № .

Издательский центр  
Пермского государственного  
национального исследовательского университета  
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Отпечатано в ООО «Учебный центр “Информатика”»  
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15