

Саратовский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского

# Исследования молодых ученых в биологии и экологии

Сборник научных трудов

ВЫПУСК 14

Саратов, 2016

УДК 57(082)  
ББК 28.0 я 43  
И85

**Исследования молодых ученых в биологии и экологии: Сб.**  
И85 науч. тр. – Саратов, 2016. – Вып. 14. – 103 с.: ил.

Сборник посвящен итогам научной конференции молодых ученых вузов Поволжского региона. В нем представлены обобщающие материалы научных исследований, проводимых студентами, магистрами и аспирантами на современном этапе. Рассмотрены проблемы биологии и экологии микроорганизмов, растений и животных.

Для студентов и аспирантов биологического профиля, а также для специалистов в области естествознания и сотрудников государственных учреждений по охране окружающей среды и природных ресурсов.

Под редакцией  
доктора биологических наук С. А. Коновой  
кандидата биологических наук Е. В. Глинской

Рецензент  
доктор биологических наук Н. В. Попов

УДК 57(082)  
ББК 28.0 я 43

**ISSN 2074-7853**

© Саратовский национальный  
исследовательский государственный  
университет, 2016

## CTX-M ANTIBIOTIC RESISTANCE GENE IN UROPATHOGENIC *ESCHERICHIA COLI* (UPEC): GENOTYPIC IDENTIFICATION

Urinary tract infections are the second most common cause of both community- and hospital-acquired infections [1]. Three decades after their emergence, ESBLs-producing Enterobacteriaceae have become one of the most common mechanisms of drug resistance for common urinary pathogens, including *E. coli* [2]. These enzymes are plasmid-mediated, hydrolyzing  $\beta$ -lactam molecules in antibiotics [3]. They differ from each other in their ability to inactivate a given  $\beta$ -lactam, susceptibility to  $\beta$ -lactamase inhibitors, substrate and inhibitor profiles, molecular weight, and isoelectric point [4, 5]. Generally, they classified into four main groups, A, B, C, and D [6].

CTX-M enzymes are the newest class A ESBLs, encoded by  $bla_{CTX-M}$  gene and mostly found in *E. coli*. They were first isolated in Germany, Argentina, and France in 1989 [7], and since they were reported with an increasing prevalence and incidence in all age groups of both genders and in different geographic areas, including United States, Africa, Europe, and Asia. These enzymes exhibited higher resistance activity against cefotaxime (CTX) than other cephalosporins, and thus they given their name. It has been revealed that the predominant ESBL genotype in UPEC has been changed now in Europe from TEM and SHV to CTX-M [8-12]. Characterization of CTX-M by molecular methods is important for infection control, and it can provide useful information about its epidemiology [13]. Due to the little information concerning the expression of ESBLs-producing *E. coli* to antibiotic resistance genes in Russia, and particularly in the city of Saratov, this study was carried out to determine the prevalence of CTX-M resistance gene in UPEC isolates.

**Bacterial isolates:** A total of 57 *E. coli* isolates which were already isolated from urine specimens of patients with UTI, investigated, and screened according to [14-16] to be ESBL-positive producing isolates were used in the current study. The standard isolate *E. coli* ATCC 25922 was used as ESBL negative (control).

**Preparation of bacterial DNA:** Isolates of *E. coli* were inoculated in Luria-Bertani broth medium and cultured overnight at 37°C. The growth were suspended in sterile distilled water, incubated at 95°C for 10 minutes, and then centrifuged. The supernatant was stored at -20°C as a template DNA stock [17].

**PCR amplification procedure:** The detection of CTX-M gene was carried out by PCR. The primer sequences were obtained from Integrated DNA technologies, Belgium [18]. Primer descriptions are displayed in table 1. Amplification was performed in a thermal cycler. The reaction included the following steps:

1. An initial denaturation at 95°C for 5 minutes consisted of one cycle.
2. Successive steps of denaturation at 94°C for 60 seconds, specific annealing at 55°C for 30 seconds, and a final extension at 72°C for 60 seconds, consisted of 30 cycles.
3. A final extension at 72°C for five minutes consisted of one cycle [19].

The thermocycler reaction conditions were calculated on the basis of the annealing temperature and the length of the product size. The PCR amplified DNA was analyzed on (1.5%) agarose gel by electrophoresis.

Table 1

**Descriptions and sequences of PCR primers.**

Primer		Primer sequences (5'– 3')	Product size (bp)
CTX-M	F	CGC TTT GCG ATG TGC AG	590 bp
	R	ACC GCG ATA TCG TTG GT	

The results of the genotypic detection of CTX-M gene are shown in table 2 and figure. Of the 57 tested ESBL-producing *E. coli* isolates, only 36 (63%) were positively expressing this gene. Such high prevalence was also observed in other studies done over the world [20-22]. This may be related to the fact that sometimes other  $\beta$ -lactamases (including TEM, SHV, OXA, and AmpC) may present in the same ESBL-producing organism, resulting in masking the expression of CTX-M gene [1, 3].

The expression of CTX-M gene is not only done by UPEC. However, it has been revealed that other bacterial pathogens, including *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, and *Citrobacter* spp. recovered from different medical and food specimens can also carry this gene with high expression rates ranged 53.5-56% [24-25].

Table 2

**Distribution of CTX-M gene among UPEC samples detected by PCR**

Total <i>E. coli</i> isolates № (%)	<i>E. coli</i> isolates expressed CTX-M gene № (%)
57 (100)	36 (63)



Figure. Gel electrophoresis of the PCR products of CTX-M gene from ESBL-producing *E. coli* isolates. № 1, 2, 4, 5, 7-12, and 14: Positive samples. № 3: negative control (*E. coli* ATCC25922). № 6 and 13: Negative samples

From the current results, we can conclude that CTX-M resistance gene was expressed actively in the ESBL-producing UPEC isolates and other bacterial pathogens, and thus higher resistance patterns to the commonly used antibiotics were seen. Therefore, in blind therapy of suspected UTIs, imipenem and amikacin are the drugs of choice.

## REFERENCES

1. *Salvatore D.J., Resman-Targoff B.H.* Treatment options for UTIs caused by ESBL-producing *E. coli* & *K. pneumoniae*. J. Acad. Hosp. Med. 2015. Vol. 7, Issue 1.
2. *Beytur A., Yakupogullari Y., Oguz F., Otlu B., Kaysadu H.* Oral amoxicillin-clavulanic acid treatment in UTIs caused by ESBL-producing organisms. Jundishapur J. Microbiol. 2015. Vol. 8, № 1. (e13792). P. 1-5.
3. *Kaye K.S., Pogue J.M.* Infections caused by resistant gram negative bacteria: Epidemiology & management. J. Human Pharma. & Drug Therapy. 2015. Vol. 35, Issue 10. P. 949-962.
4. *Bush K.* The coming of age antibiotic discovery & therapeuticalue. Annals of the NY Acad. of Sci. 2010. Vol. 1212. P. 1-4.
5. *Sharma A., Prakash M.R., Veena M., Singh R.E.* ESBL-A continuous diagnosis challenge to clinical microbiology laboratories. Interna. J. Appl. Biol. & Pharma. Technol. 2012. Vol. 3, № 2. P. 9-15.
6. *Yazdi M., Nazemi A., Mirinargasi M., Jafarpour M., Sharifi S.H.* Genotypic versus Phenotypic methods to detect ESBLs in UPEC. Annals of Biol. Res. 2012. Vol. 3, № 5. P. 2454-2458.
7. *Cantón R., Novais A., Valverde A., Machado E., Peixe L.* Prevalence & spread of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. Clin. Microbiol. & Inf. 2008. Vol. 14, Suppl. 1. P. 144–153.
8. *Doi Y., Park Y.S., Rivera J.I.* Community-associated ESBL-producing *E. coli* infection in the U.S. Clin. Infect. Dis. 2013. Vol. 56. P. 641–648.
9. *Tansarli G.S., Poulidakos P., Kapaskelis A.* Proportion of ESBL-producing isolates among Enterobacteriaceae in Africa: Evaluation of the evidence-systematic review. J. Antimicrob. Chemother. 2014. Vol. 69. P. 1177–1184.
10. *Sidjabat H.E., Paterson D.L.* MDR *E. coli* in Asia: Epidemiology & Management. Expert Rev. of Anti-Infective Therapy. 2015. P. 1–17.
11. European Center for Disease Prevention & Control (ECDC). Antimicrobial resistance surveillance in Europe: 2013. Stockholm, Sweden. 2014. Available online from <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistancesurveillance-europe-2013.pdf>.
12. *Yumuk Z., Afacan G., Nicolas-Chanoine M.H., Sotto A., Lavigne J.P.* Turkey: A further country concerned by community-acquired *E. coli* clone O25-ST131 producing CTX-M-15. J. Antimicrob. Chemother. 2008. Vol. 62, № 2. P. 284-288.
13. *Garrec H.; Drieux-Rouzet L.; Golmard J-L.; Jarlier V.; Robert J.* Comparison of Nine Phenotypic Methods for Detection of ESBL Production by Enterobacteriaceae. J. Clin. Microbiol. 2011. Vol. 49, № 3. P. 1048–1057.

14. Health Protection Agency (HPA). Investigation of urine. UK Standards for Microbiology Investigations. 2012. B 41, Issue 7.1: P.1-41. Available online from <http://www.hpa.org.uk/SMI/pdf>.

15. Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Supplement M100–S15. CLSI, PA, USA. 2005. Available online from [www.clsi.org](http://www.clsi.org)

16. Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 22<sup>nd</sup> informational supplements update. CLSI document M100-S22 U. CLSI, PA, USA. 2012. Available online from [www.clsi.org](http://www.clsi.org)

17. *Farshad S., Emamghoraishi F., Japoni A.* Association of virulent genes Hly, SFA, CNF-1 & Pap with antibiotic sensitivity in *E. coli* strains isolated from children with CAUTI. Iranian Red Cres. Med. J. 2010. Vol. 12, № 1. P. 33-37.

18. Integrated DNA Technologies. Specification Sheet: Sequences of primer 1 forward and reverse. Integ. DNA Techno, BVBA, Interleuvenlaan 12A, B-3001, Leuven, Belgium. 2015. Available from [www.IDTDNA.com](http://www.IDTDNA.com)

19. *Nasehi L., Shahcheraghi F., Nikbin V.S., Nematzadeh S.* CTX-M, TEM, & SHV Beta-lactamases in clinical isolates of *K. pneumoniae* isolated from Tehran, Iran. Iranian J. Basic Med. Sci. 2010. Vol. 13, № 3. P. 111-118.

20. *Rashid M., Rakib M.M., Hasan B.* Antimicrobial-resistant and ESBL-producing *E. coli* in different ecological niches in Bangladesh. Infect. Ecol. & Epidemiol. 2015. Vol. 5. 26712. P. 1-7.

21. *El-Garbulli F.R., Buzayan M.M., Mathlouthi N.* Emergence of CTX-M gene among ESBL positive *E. coli* isolates from UTI outpatients at Benghazi, Libya. The 2<sup>nd</sup> Symposium on Theories and Appl. of Basic and Biosci. 2015. P. 27-35.

22. *Rahman H., Naeem M., Khan I., Khan J., Haroon M.* Molecular prevalence & antibiotics resistance pattern of class A bla CTX-M-1 & bla TEM-1 beta lactamases in UPEC isolates from Pakistan. Turkish J. Med. Sci. 2016. Vol. 46. Doi:10.3906/sag-1502-14. P. 1-6.

23. *Upadhyay S., Hussain A., Mishra S., Maurya A.P., Bhattacharjee A.* Genetic environment of plasmid mediated CTX-M-15 ESBLs from clinical & food borne bacteria in North-Eastern India. PLOS ONE. 2015. P. 1-11. DOI:10.1371/journal.pone.0138056.

24. *Praharaj A.K., Khajuria A., Kumar M., Grover N.* Phenotypic detection & molecular characterization of beta-lactamase genes among *Citrobacter* species in a tertiary care hospital. Avicenna J. Med. 2016. Vol. 6, Issue 1. P. 17-27.

**А.Ф.А. Аль Зубейди, Е.В. Токмакова, Р.А. Верховский, А.А. Чемодурова,  
Я.О. Ковалева**

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ СУПРАГИНГИВАЛЬНОЙ ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ МЕТОДОМ ПЦР

Воспалительные заболевания пародонта (ВЗП) – гингивит и пародонтит - до настоящего времени остаются одной из самых актуальных проблем стоматологии. Согласно исследованиям Всемирной организации здравоохранения у 15-20% людей среднего возраста (35-44 года) выявляется

тяжелая форма пародонтита, которая может приводить к выпадению зубов и, как следствие, к развитию вторичных деформаций зубных рядов, патологии височно-нижнечелюстного сустава и нарушению акта жевания и речи [1, 2]. Все это неблагоприятно влияет на общее состояние организма, провоцирует развитие ряда соматических заболеваний и существенно снижает качество жизни человека.

Основным этиологическим фактором ВЗП признана патогенная и условно-патогенная микрофлора супрагингивальных и субгингивальных зубных бляшек. Показано, что степень микробной обсемененности полости рта четко коррелирует не только с интенсивностью воспалительных процессов в тканях пародонта, но и с течением некоторых общесоматических заболеваний. Цель данного исследования - оценить распространенность ВЗП среди молодых людей (до 25 лет) и идентифицировать у них ДНК пародонтопатогенов в зубном налете. Полученные данные могут быть значимы как с научной, так и с прогностической точки зрения, поскольку своевременно принятые меры для максимально эффективного воздействия на патологический процесс в тканях пародонта – наиважнейшее условие любых профилактических и лечебных мероприятий.

Клиническое состояние тканей пародонта у 100 волонтеров (возраст от 18 до 25 лет) оценивали с помощью стоматологических индексов: папиллярно-маргинально-альвеолярного (РМА) и индекса гингивита (ГИ). Состав микрофлоры в десневой жидкости определяли методом ПЦР с использованием набора «Мультидент-5» (ООО «НПФ Генлаб», г.Москва), позволяющего детектировать ДНК 5 видов пародонтопатогенов: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*. Забор материала осуществляли путем введения стерильного бумажного зонда на 10 сек в десневой желобок до основания слизистой. Статистическую обработку полученных данных осуществляли при помощи пакета программ Statistica 6.0.

При оценке состояния стоматологического статуса у 100 молодых людей гингивит легкой и средней степени тяжести был диагностирован у 19 (19%) человек (среднее значение индекса ГИ -  $1,82 \pm 0,14$ ; РМА -  $26,65 \pm 0,44\%$ ; I. Muhlemann -  $1,89 \pm 0,07$ ), а пародонтит легкой степени тяжести – у 4 (4%) человек (ГИ -  $2,50 \pm 0,29$ ; РМА -  $44,5 \pm 2,8\%$ ; I. Muhlemann -  $2,75 \pm 0,25$ ).

Несмотря на то, что в группе людей со здоровым пародонтом (77 чел.) отмечался хороший уровень гигиены полости рта (ГИ -  $0,83 \pm 0,09$ ; РМА – 0; I. Muhlemann - 0), тем не менее, у 18 (23,4%) человек была выявлена ДНК *P. gingivalis*; у 9 (11,7%) человек - ДНК *P. intermedia*; у 8 (10,3%) человек - ДНК *A. actinomycetemcomitans*; у 4 (5,2%) человек - ДНК *T. forsythia*; у 1 (5%) человека – ДНК *T. denticola* (рисунок).

В десневой жидкости 69,6% страдающих воспалительными заболеваниями пародонта, была выявлена ДНК *P. gingivalis*, у 47,8% больных - ДНК *A. actinomycetemcomitans*, у 8,7% – ДНК *P. intermedia* и *T. denticola*, у 4,3% - ДНК *T. forsythia*.

ДНК одного из тестируемых видов бактерий выявлялась у 26,1% больных ВЗП, а в ассоциации из 2-х или 3-х видов пародонтопатогенов – у 43,5% и у 8,7% больных, соответственно. По мере углубления воспалительного процесса возрастала доля случаев выявления ДНК нескольких пародонтопатогенов.

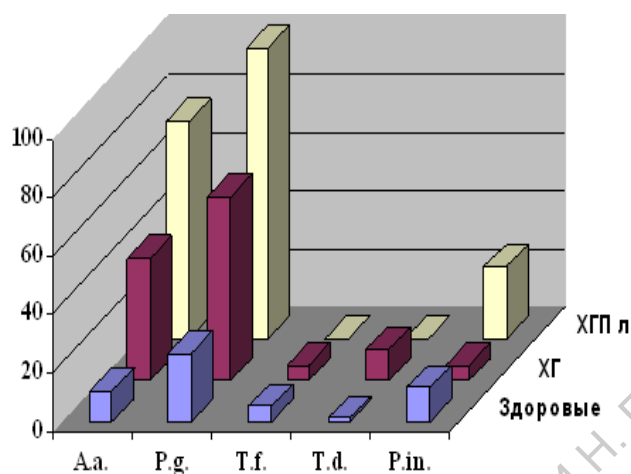


Рис. Распределение случаев выявления ДНК пародонтопатогенов в десневой жидкости больных хроническим гингивитом (ХГ), хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени (ХГПл) и у здоровых лиц.

A.a. - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; P.g. – *Porphyromonas gingivalis*; T.f. – *Tannerella forsythia*; T.d. – *Treponema denticola*; P.in. - *Prevotella intermedia*

Таким образом, воспаление тканей пародонта выявлялось у юношей и девушек (18-25 лет) в каждом четвертом случае и четко коррелировалось с неудовлетворительным ГИ. У лиц со здоровым пародонтом, как и у больных ВЗП, в десневой жидкости с наибольшей частотой выявлялась ДНК *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* и *P. intermedia*. Ассоциация этих бактерий отличается особо агрессивным действием на ткани пародонта и со временем может вызвать сильную кровоточивость десен, деструкцию коллагена и быстрое течение воспалительных процессов [3]. В связи с этим крайне важно проводить информационно-разъяснительную работу среди молодых людей, независимо от состояния их пародонта, с целью профилактики болезней полости рта.

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент О.Ю. Ксенофонтова; научный консультант – канд. биол. наук И.В. Зудина.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Информационный бюллетень ВОЗ №318 «Здоровье полости рта». Май 2012 г.
2. Кузьмина Э.М., Кузьмина И.Н., Петрина Е.С. Стоматологическая заболеваемость населения России. Состояние тканей пародонта и слизистой оболочки полости рта. М.: МГМСУ, 2009. 228 с.



3. Socransky S.S., Haffajee A.D., Cugini M.A., Smith C., Kent R.L. Microbial complexes in subgingival plaque // J Clin Periodontol. 1998. V.25. №2. P.134-144.

**А.Н. Балыкова**

### САЙТ – НАПРАВЛЕННЫЙ МУТАГЕНЕЗ ГЕНА GMD2 БАКТЕРИИ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SP245

Липополисахариды (ЛПС), состоящие из липида А, корового олигосахарида и экспонированного во внешнюю среду О-специфического полисахарида (ОПС), являются доминирующим компонентом внешней мембраны грамотрицательных бактерий. Ввиду поверхностного расположения ОПС отводится важная роль в процессах коммуникации с другими организмами и адаптации к условиям окружающей среды [1]. Бактерии *Azospirillum brasilense* Sp245 (Baldani et al., 1983), используемые в настоящей работе, относятся к  $\alpha$ -протеобактериям порядка *Rhodospiriales*. Они образуют ассоциативные эндофитные симбиозы, осуществляя стимуляцию многих высших растений, посредством фиксации молекулярного азота, выделения в почву фитогормонов и других биологически активных субстанций. Кроме того, этот штамм, один из немногих представителей вида, у которого полностью просеквенирован геном и установлена химическая структура ОПС, повторяющееся звено которого – линейный пентасахарид из D-рамнозы [2]. Как известно, D-рамноза синтезируется из D-маннозы при участии 2-х энзимов: первый –GDP-D-манноза-4,6-дегидратаза (EC 4.2.1.47), является продуктом интересующего нас гена *gmd2*, второй – RMD-редуктаза (EC 1.1.1.281) завершает превращение D-рамнозы [3].

Для изучения функции отдельных бактериальных макромолекул в структуре внешней мембраны высокоинформативным методом является получение мутантов, дефектных по этим компонентам. Как правило, направленный на биосинтез ОПС мутагенез вызывает изменение ряда свойств бактерий и поверхностных метаболитов, что усложняет трактовку результатов эксперимента. Решением данной проблемы может оказаться создание вектора, позволяющего направленно выключать ключевые гены, вовлеченные в биосинтез ОПС. В связи с вышесказанным цель работы: сконструировать вектор для нокаута одного из генов, вовлеченных в биосинтез ОПС *A.brasilense* Sp245.

В работе использовали бактерии *A.brasilense* Sp245 (IBPPM 219), предоставленные коллекцией ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН. Установление последовательности нуклеотидов проводилось путём секвенирования в коммерческой организации СИНТОЛ, для чего предварительно был наработан фрагмент гена *gmd2* методом ПЦР. Праймеры были подобраны с помощью программного обеспечения Prime 3: прямой праймер *ATCCATGGCGGATGTGGCCG*; обратный праймер *CCAGGACGGGGCTTATCTGT*; обратная комплементарная цепь от 5' к 3': *ACAGATAAGCCCCGTCCTGG*.

Для генерирования мутантного ампликона проводили ПЦР со смесью 4-х

праймеров: IBS1/2, EBS1/delta, EBS2, EBS универсальный, предоставленные SigmaAldrich. Выполнялось 30 циклов ПЦР: инициация денатурации-94<sup>0</sup>С, 30 сек; денатурация-94<sup>0</sup>С, 15 сек; отжиг-55<sup>0</sup>С, 30 сек; отжиг/элонгация-72<sup>0</sup>С, 30 сек., финальная элонгация-72<sup>0</sup>С, 2 мин. Электрофорез проводили в 2% агарозном геле, в буфере TBE, с добавлением интеркалирующего красителя EtBr (бромистый этидий) для визуализации результатов.

Для получения липких концов использовали две рестриктазы: Hind III (Е.С. 3.1.21.4) и BsrG I (Е.С. 3.1.21.4) (Sigma-Aldrich). Лигирование проводилось с помощью лигазы QuickLink™ DNA T4 (ЕС 6.5.1.1) Для проведения сайт – специфического нокаута гена *gmd2* использовали протокол TargeTron™ GeneKnockoutSystem (Sigma-Aldrich).

Мониторинг генома *A.brasilense* Sp245 выявил расположение *gmd2* в 6-й плазмиде (AZOBR\_p60015). Секвенирование показало полное совпадение исследуемого гена с последовательностью *gmd2* в геноме *A.brasilense* Sp245 [4].

Выбор протокола TargeTron™ GeneKnockoutSystem (Sigma-Aldrich) обусловлен тем, что позволяет провести быстрое и направленное выключение бактериального гена посредством инсерции мобильной группы интронов II, особенностью которых является способность к самостоятельной встройке в интересующие гены посредством активации РНК-белкового комплекса [5].

Использовали компьютерный алгоритм для идентификации сайтов встраивания интрона II гр. в последовательность *gmd2*. Выбран сайт, со значением  $E\text{-value}=0.019$  (798|799s CACCAGCCGGATCAGGCTCG ACAGGTCCGGTGAGGTTGCCATCCAT)

Компьютерный алгоритм позволил получить нуклеотидную последовательность 3-х праймеров на сайт-мишень, которые были использованы для программирования интрона II гр. Результатом ПЦР-реакции, проведенной с 4-мя праймерами, являются мутантные ампликоны размером 350 пн., проверку которых проводили с помощью электрофореза. Полученный фрагмент обрабатывался рестриктазами *HindIII* и *BsrGI*, для получения «липких» концов, затем комплементарно воссоединялся, путём лигирования с линейризованным вектором *pACD4K-C* (Sigma-Aldrich), содержащим дополнительные компоненты интронной конструкции.

Таким образом, получен вектор, способный нокаутировать ген, кодирующий фермент GDP-D-манноза-4,6-дегидратазу (Е.С. 4.2.1.47), на начальном этапе биосинтеза ОПС.

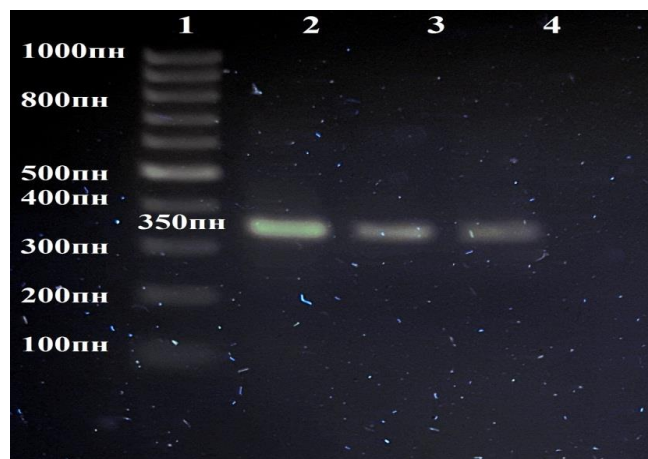


Рис. Результаты электрофоретического исследования. 1- ДНК-маркеры, 2- мутантный ампликон 350 пн., 3,4-фрагмент после обработки рестриктазами

Сконструированный молекулярный инструмент для получения мутантных бактерий по биосинтезу ОПС может быть полезен для установления структурно-функциональных особенностей поверхностного гликополимера и роли в формировании бактериями эффективного симбиоза с макропартнером.

Авторы благодарят канд. биол. наук, доцента кафедры биохимии и биофизики Владимира Александровича Великова, а также сотрудников лаборатории биохимии ИБФРМ РАН: канд. биол. наук. Игоря Викторовича Борисова канд. биол. наук. Елену Николаевну Сигиду.

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор С.А. Коннова; научный консультант – канд. биол. наук Ю.П. Федоненко.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Bacterial lipopolysaccharides: Structure, chemical synthesis, biogenesis and interaction with host cells (Eds. *Y.A.Knirel, M.A.Valvano*) Springer, Wien, 2011.
2. *Fedonenko Y.P., Zatonsky, G.V., Konnova, S.A., Zdrovenko, E.L., Ignatov, V.V.* Structure of the O-specific polysaccharide of the lipopolysaccharide of *Azospirillum brasilense* Sp245 // *Carbohydr. Res.* – 2002. – V. 337. – P. 869–872.
3. *King J.D* The structural basis for catalytic function of GMD and RMD, two closely related enzymes from the GDP-D-rhamnose biosynthesis pathway/ *J.D. King* // *FEBS Journal*.2009. V.276. P. 2686–2700.
4. База данных нуклеотидных последовательностей национального центра биотехнологической информации (NCBI) [Электронная база данных]: база данных установленных нуклеотидных последовательностей геномов организмов. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/HE577333.1> (дата обращения: 27.04.2016). Загл. с экрана. Яз. англ.
5. Сайт продукции компании Sigma- Aldrich (филиал г. Москвы) [Электронный ресурс]: URL:<http://www.sigmaaldrich.com/life-science/functional-genomics-and-rnai/targetron.html> (дата обращения: 26.04.2016). Загл. с экрана. Яз. рус.

## ОЦЕНКА ОБИЛИЯ И АНАЛИЗ ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАЗМЕЩЕНИЯ КОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ В ПОЙМЕ Р. МЕДВЕДИЦЫ

В долинах рек, особенно их пойменной части, находятся характерные местообитания многих видов копытных животных, в частности, изучаемых в данной работе кабана (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758), лося (*Alces alces* Linnaeus, 1758), оленя благородного (*Cervus elaphus* Linnaeus, 1758), косули сибирской (*Capreolus pygargus* Pallas, 1771). Здесь имеются подходящие кормовые станции, водопои, укрытия для взрослых и молодняка [1].

Все перечисленные виды являются объектами промысловой и спортивной охоты, кроме того, косуля относится к акклиматизированным в прошлом животным. Кабаны и лоси были почти полностью истреблены, но в настоящее время их популяции восстановились и имеют относительно стабильную численность. Известны миграции многих копытных вдоль речной долины, что приводит к сезонным колебаниям обилия. Высокая экологическая пластичность кабанов и их способность быстро наращивать численность может привести к быстрому развитию эпизоотий [2].

Целью данной работы являлось выявление относительной численности копытных и особенностей пространственной структуры их популяций в пойме р. Медведицы.

В ходе исследования были поставлены следующие задачи: определить видовой состав копытных животных в пойме, оценить обилие копытных животных в зимний и летний периоды, установить особенности пространственного размещения и места концентраций популяций кабана, косули сибирской, лося и благородного оленя.

Сбор материала проводился в долине р. Медведицы в окрестностях с. Атаевка Лысогорского района Саратовской области. Изученные виды, в основном, приурочены к пойме, которая представляет собой равнинное пространство, приподнятое над меженным уровнем реки и затопляемое в период половодья. Растительность представлена пойменными осокорниками и дубравами, лугами, по берегам многочисленных старичных водоемов на границе с надпойменной террасой встречаются ольшанники. В долине р. Медведицы надпойменная терраса занята сосновыми посадками. В ходе работы были использованы маршрутный учет численности копытных по следам их жизнедеятельности, геопозиционирование при помощи GPS-навигатора, картографирование с созданием оцифрованных карт и их анализом.

В пойме были заложены модельные участки протяженностью 14 и 10 км и площадью 22 км<sup>2</sup> и 15 км<sup>2</sup> соответственно, где проводились зимние и летние учёты копытных. В ходе зимнего учета, продолжительность которого составляла 2 дня, было обнаружено около 160 различных следов жизнедеятельности кабана, 10 - косули сибирской, 4 - лося и 3 - оленя благородного. В ходе летнего учета, продолжительность которого составляла 20 дней, было обнаружено 22 различных следа жизнедеятельности кабана, 21 -

косули сибирской, 11 - лося и 6 - оленя благородного. Так же были обнаружены 3 семьи кабана и 2 - косули сибирской.

Выявление особенностей пространственного распределения копытных животных проводилось с использованием космического снимка окрестностей р. Медведицы в районе исследования, где проходил учетный маршрут. В программе MapInfo Pro 15.0 на снимок были нанесены контуры, очерчивающие однородные объекты (леса, реки и др.), и маршрутные точки, отражающие места встречи с животными (рис.). На карте были так же отмечены кормовые станции, водопои, лежки [3,4,5].

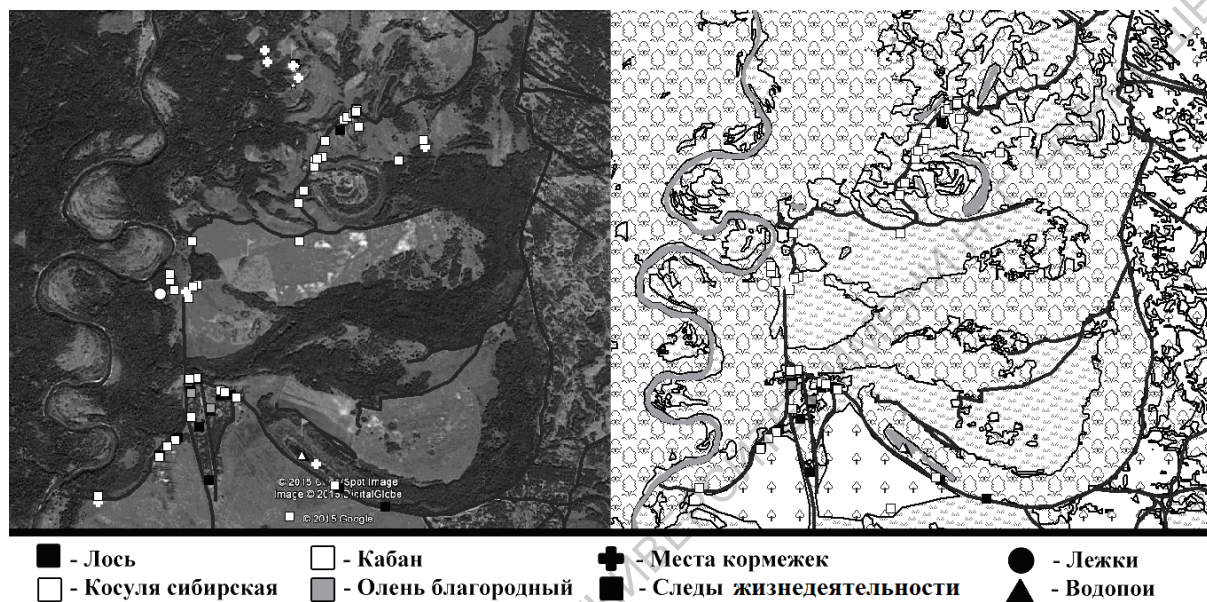


Рис. Космический снимок (слева) и карта (справа) исследуемой местности

Путем анализа построенных карт было обнаружено, что пространственное распределение копытных животных в пойме р. Медведицы носит неравномерный характер. У кабанов были выделены две крупные агрегации. Северная из них обусловлена наличием кормушки, подкормочных полей, засеянных ячменем и рожью, а так же подходящих для укрытий камышовых и тростниковых зарослей. Южная связана с наличием старой кормушки, земляничных полей, а также удобного укрытия в виде дубравы, где были обнаружены многочисленные лежки, чесалки, следы и порои. В летний период было обнаружено 36-42 кабана и установлен возрастной состав популяции: взрослых особей встречено 10-12, подсвинков - 21-24 и поросят - 5-6. Зимой 2014 г. на модельном участке учтено 162-187 особей вида. Предполагается, что такая большая численность вида в зимний период на участке в 19 км<sup>2</sup> стала причиной летней эпизоотии африканской свиной чумы и, как следствие, привела к сильному снижению численности данного вида. Эпизоотия легче развивалась в семьях, где контакты между животными были наиболее частыми. Первыми заболели поросята, как наиболее уязвимые члены семей, что привело к такой низкой их численности в летний период.

У косули также было выделено две области концентрации (см. рис.1). Северная обусловлена наличием естественных кормовых источников, водопоев, а так же близким расположением кормушки. Южная связана с наличием сосновых посадок, которые используются в качестве кормовых станций и дневных лежек. Зимой было учтено 8-10 особей этого вида, а летом уже 35-40.

Лоси концентрируются у солевых подкормок, кормушек, водопоев и удобных дневных укрытий в прибрежных зарослях у водоемов [6,7]. Зверя также можно обнаружить в сосновых посадках, используемых им как кормовые станции. Зимой было учтено 4 особи, летом - 11.

Пространственное распределение оленя подчинено аналогичным закономерностям. Они концентрируются у солевых подкормок, кормушек и в сосновых посадках, использующихся как кормовые станции и укрытия, и водопоев [8]. Зимой было учтено 3 особи, летом - 5.

Проведенные наблюдения позволили сделать следующие выводы. Относительная численность популяций копытных животных, определённая по следам их жизнедеятельности в зимний и летний периоды 2014-2015 гг., составила 190 и 92 особи соответственно. Были выявлены места концентрации копытных животных и исследована пространственная структура их популяций. Проведенный картографический анализ позволил определить взаимосвязь индивидуальных участков копытных с элементами пойменных ландшафтов.

Научный руководитель - к.б.н., доцент кафедры экологии и морфологии животных - Беляченко Александр Владимирович.

Список литературы:

1. *Абрамов К.Г.* Копытные звери Дальнего Востока.// Владивосток: Прим. книж. изд-во, 1963. 137 с.
2. *Соколов В.Е., Темботов А.К.* Позвоночные Кавказа. Млекопитающие: копытные. М.: Наука, 1993. 527 с.
3. Итоги мечения млекопитающих. Вопросы териологии. / Под ред. Соколов а В.Е. М. «Наука», 1980. 304 с.
4. *Карасева Е. В.* Мечение наземных млекопитающих в СССР // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1955. Т. 60, вып. 5. С. 31-42.
5. *Наумов Н.П.* Мечение млекопитающих и изучение их внутривидовых связей // Зоол. журнал, 1956. Т. 35, вып. 1. С.3-15.
6. *Перовский М.Д.* Индивидуальный участок лося // Копытные фауны СССР. М., «Наука», 1975. С. 15-16.
7. *Тимофеева Е.К.* Лось. Ленинград: Изд-во Ленинградского университета, 1974. 168 с.
8. *Данилкин А.А.* Млекопитающие России и сопредельных территорий. Олени (Cervidae) // М.: Изд-во ГЕОС, 2002. 552 с.

## КАРТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ВИДОВОЙ ПЛОТНОСТИ ПТИЦ В ПОЙМЕ р. МЕДВЕДИЦЫ

Биологическое разнообразие – один из важнейших показателей, определяющий общее состояние природной среды, характеризующий устойчивость экосистемы. Птицы являются основным компонентом регионального разнообразия живых организмов, подлежащим мониторингу, охране и исследованию с целью разработки принципов рационального природопользования и охраны окружающей среды [1].

Целью работы являлся анализ закономерностей пространственного распределения видовой плотности гнездящихся птиц, связанных с притеррасным озером «Лебяжьим», в 1.1 км от русла реки Медведицы и в 5.5 км к северу от с. Атаевка Лысогорского района Саратовской области.

Для достижения этой цели поставлены следующие задачи: выявить типичные местообитания птиц и проанализировать динамику распределения плотности за период исследования на учётных маршрутах.

Исследования проводились в гнездовой и постгнездовой периоды 2013-2015 гг. на модельном участке долины р. Медведицы. Методы исследования включали учёт птиц в разнообразных биотопах речной поймы [2-4], описания их местообитаний, картирование распределения гнездовых участков по территории долины реки, создание и анализ картографических поверхностей.

С целью подробного изучения размещения птиц и выявления их гнездовых участков была составлена геоботаническая карта [5]. Для этого использовались материалы маршрутно-глазомерной съёмки, привязанные к координатам местности с помощью GPS навигатора [6]. Полученные данные обрабатывались в программе MapInfo Professional 8.5 SCP. За основу карты был взят спутниковый снимок оз. Лебяжьего (Google Earth 6.8.11). Он был оцифрован и связан с координатами мест проведения исследований, установленными с помощью GPS навигатора. На основании результатов геоботанической съёмки вся растительность была разделена на следующие типы: лесная, лугово-степная, прибрежно-водная и искусственные насаждения.

На геоботаническую карту были нанесены точки мест встреч особей различных видов птиц с привязанными к ним с помощью навигатора координатами. Возможности программы MapInfo позволили нам интерпретировать полученные данные различными способами. Например, мы смогли визуализировать распределение гнездовых участков птиц, сравнить показатели плотности в 2013-2015 гг., рассчитать коэффициент корреляции за указанный период.

На основе собранных материалов было выявлено пространственное распределение видов, использующих местообитания оз. Лебяжьего. В программе MapInfo по каждому году были созданы непрерывные картографические поверхности, представляющие полученные данные - grids.

За период исследования мы наблюдали отрицательную динамику уреза воды в оз. Лебяжьем. Расположение гнездовых участков, а, следовательно,

распределение плотности птиц напрямую зависело от условий обводнённости озера. Наиболее резко данный фактор влиял на виды, гнездящиеся на кочках, окружённых водой, на берегу озера или среди прибрежной растительности. Эти виды строят гнёзда в строго определённых условиях гидрологического режима, так как от них зависит безопасность потомства. Виды, связанные с древесной или кустарниковой растительностью, чья экологическая ниша не претерпевала видимых изменений из-за понижения уровня воды, проявляли гнездовой консерватизм, однако и их плотность снижалась по пока неизвестным причинам. На рисунке представлены показатели плотности птиц за время проведения работ.

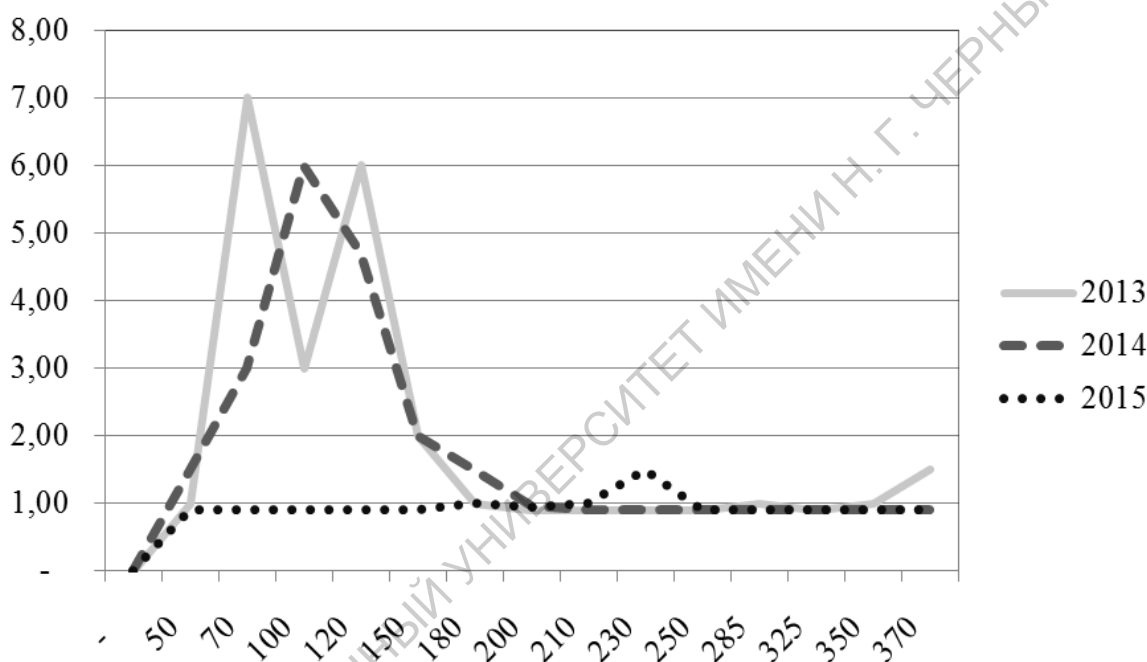


Рис. Изменение плотности распределения особей различных видов на поперечной трансекте через оз. Лебяжье в 2013-2015 гг

В 2013 г. наблюдались два пика распределения плотности дендрофильных и лимнофильных видов (7 и 6 особей/25м<sup>2</sup> соответственно) на учётных квадратах на 70-130 м профиля. В 2014 г. пик плотности находился уже на 110 м, остальное пространство было заселено незначительно. Наименьшим уровнем воды за весь период исследования характеризовался 2015 г. Лимнофильные виды, гнездящиеся в прибрежной растительности, следовали за отступающим урезом воды, незначительные пики плотности за этот год наблюдаются на 230-250 м поперечного профиля.

Из вышесказанного следует, что плотность численности птиц, заселяющих долину р. Медведицы, напрямую зависит от условий обводнения поймы. Если в самый влажный 2013 г. наибольшая плотность составляла 7 особей различных видов на 25м<sup>2</sup>, то в 2014 г. максимум плотности снизился до 6 особей/25м<sup>2</sup> и пик плотности был более плавный, в 2015 г., при самом низком уровне воды в озере, плотность гнездящихся видов была минимальна (1.5 особей/25м<sup>2</sup>).



Изменилось также и расположение гнездовых участков. Корреляция между поверхностями распределения плотностей в 2013-2014 г. была средней (0.57), в 2014-2015 – низкой (0.30), а в 2013-2015 гг. - крайне низкая (0.23) при  $P < 0.05$ .

Научный руководитель – канд. биол. наук А.В. Беляченко

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Завьялов Е.В.* Генезис и основные направления трансформации фауны птиц в условиях динамики естественных и антропогенных факторов на севере Нижнего Поволжья: автореф. дисс. доктора биол. наук / Е.В. Завьялов. Саратов: изд-во Сарат. ун-та, 2005. 47 с.
2. *Равкин Ю. С.* К методике учёта птиц в лесных ландшафтах. // В кн.: «Природа очагов энцефалита на Алтае». Новосибирск, 1967. С. 66-75.
3. *Добровцев В.И.* Методы учёта водоплавающих птиц в лесостепи Северного Казахстана // Материалы 6-ой Всесоюзной орнитологической конференции. Ч.1. М.: МГУ, 1974. С. 277-279.
4. *Наумов Р.Л.* Методика абсолютного учёта птиц в гнездовой период на маршрутах // Зоологический журнал. №1, 1965. С. 81-92.
5. *Гудина, А.Н.* Методы учета гнездящихся птиц: картирование территорий // А.Н. Гудина. – Запорожье: Дикое Поле, 1999. 241 с.
6. *Смирнова О.В.* Руководство по полевой практике. Методы сбора и первичного анализа геоботанических и демографических данных // Сохранение и восстановление биоразнообразия. Колл. Авторы / Смирнова О.В., Ханина Л.Г., Бобровский М.В. [и др.] М.: Изд-во Научного и учебно-методического центра, 2002. 286 с.

**О.Д. Бохина**

### ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ БАРСУКА (*MELES MELES L.*) В САРАТОВСКОМ ПРАВОБЕРЕЖЬЕ ЗА 2011-2015 ГОДА

Барсук европейский (*Meles meles* Linnaeus, 1758) обладает значительной экологической пластичностью, что позволяет ему легко адаптироваться к самым разнообразным воздействиям естественной среды его обитания. Он занимает постоянный участок, обеспечивающий его кормовыми ресурсами, убежищем и условиями для выводковых нор. Биопродуктивность используемых барсуками экосистем определяет размер их индивидуальных участков. Чем меньше биопродуктивность среды, тем больше радиус удаления зверей от нор в поисках корма [1]. Особенности рельефа оказывают большое влияние на расположение подземных убежищ [2]. Норы не только несут информацию о непосредственном хозяине, но и облегчают освоение территорий последующим поколениям [3,4]. Существует гипотеза, что климатические факторы также влияют на регуляцию численности [5].

Основной целью исследования было выявление зависимости численности барсука в Саратовском Правобережье от региональной географической специфики территорий. В задачи входило выявление динамики численности барсука с 2011 по 2015 г. на исследуемой территории, оценка зависимости плотности его популяции от орографических и погодных условий.

В качестве материала использованы сведения комитета охотничьего хозяйства и рыболовства Саратовской области о численности барсука по 20 административным районам и данные собственных маршрутных учетов. Применялись стандартные методики учета животных [6]. Также учитывались опросные данные егерей, охотников и местного населения. Для исследования связи между плотностью популяций барсука и плотностью оврагов использовался ранговый коэффициент корреляции Спирмена. Статистический анализ проводился в программе STATISTICA 10.

Популяция барсуков в пределах рассмотренной территории неоднородна, средняя плотность составляет 0,06 особей на 1 км<sup>2</sup>. Наибольшая плотность приходится на Лысогорский (0,17 особей/км<sup>2</sup>), Романовский (0,11), Красноармейский и Ртищевский (по 0,1) районы. Наименьшая плотность наблюдается в Аркадакском, Аткарском, Петровском (по 0,03), а также в Екатериновском, Балашовском и Самойловском (по 0,02) районах. Установлена умеренная положительная связь ( $r=0,509$ ) между плотностью популяций барсука и плотностью оврагов (ссылка на карту). Коэффициент ранговой корреляции и ранговая корреляционная связь между оценками по двум тестам ( $p<0,05$ ) статистически значимы. Для визуализации информации на основе табличных данных был построен график (рис.).

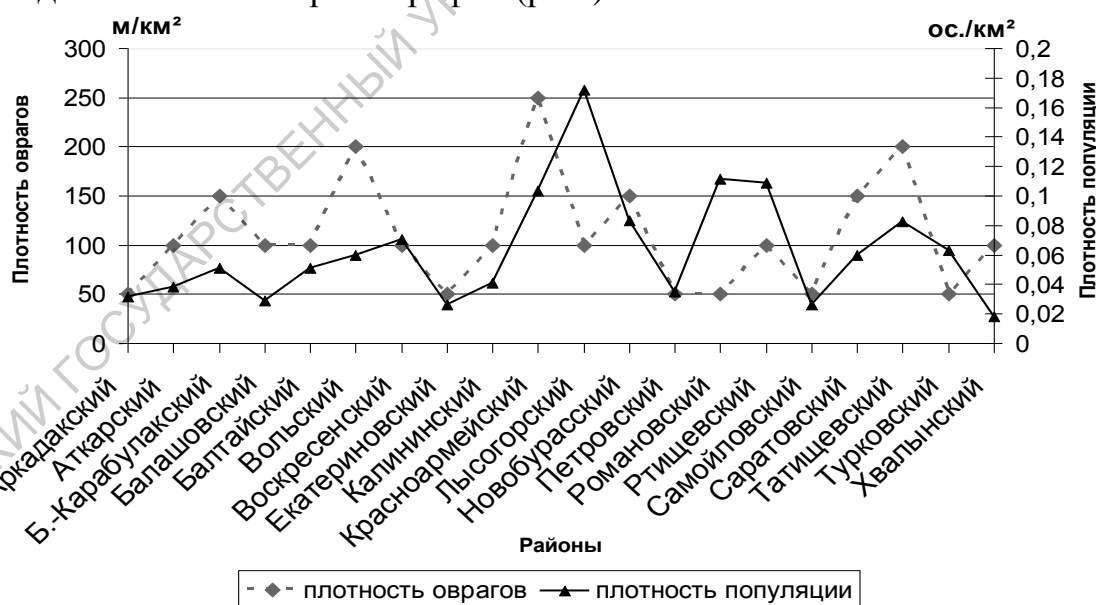


Рис. Плотность популяции барсука (ос./км<sup>2</sup>) и плотность оврагов (м/км<sup>2</sup>) в районах Саратовского Правобережья

Особенности рельефа оказывают большое влияние на выбор барсуком расположения убежищ. Наибольшую корреляцию с плотностью размещения нор имеет плотность овражной сети. Ряд особенностей (подходящий рельеф,

хорошо дренированные, несыпучие почвы, глубокое залегание грунтовых вод) характеризует возможность устройства поселений, что является лимитирующим фактором и объясняет длительное существование нор в районах с высокой плотностью оврагов. Орографические особенности местности обуславливают возможность устройства таких поселений.

Там, где устройство нор по каким-либо причинам ограничено, животным приходится использовать антропогенно нарушенные ландшафты. Так, например, в Самарском лесу барсук роет норы в старых окопах и блиндажах, в Дарвинском заповеднике – в угольных ямах [7].

С 2010 года в течение последующих двух лет отмечалось снижение численности животных. Это объясняется тем, что в засушливый период 2010 года, который характеризовался отсутствием осадков в течение всего вегетационного периода, наблюдалось сокращение кормовой базы (рис.). Численность барсука в районах с низкой плотностью оврагов и малым количеством подходящих территорий для норения сократилась на 50–60%, в районах с высокой плотностью оврагов – уменьшилась на 7–10%. Таким образом, можно говорить о том, что погодные условия также могут оказывать важное косвенное влияние на регуляцию численности барсука.

Проведенные исследования показали, что в Саратовском правобережье наибольшую корреляцию с плотностью популяции имеет плотность оврагов. Отмечено влияние термического режима и ухудшение режима увлажнения на популяции барсука в районах с низкой плотностью овражной сети лесостепных зон. Полученные данные о положительной связи плотности популяции барсука и плотности оврагов могут быть использованы при поиске потенциальных местообитаний с помощью анализа в программе ArcGIS.

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор В.А. Болдырев.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Дворников М.Г., Дворникова Н.П., Коробейникова В.П. Особенности растительности в поселениях барсука (*Meles meles* L.) на Южном Урале // Экология. 1996. № 5
2. Руковский Н.Н. Убежища четвероногих. М.: Агропромиздат, 1991. 174 с.
3. Наумов Н.П. Биологические (сигнальные) поля и их значение в жизни млекопитающих // Успехи современной териологии. М.: Наука, 1977. С. 93–108
4. Никольский А.А. Экологические аспекты концепции биологического сигнального поля млекопитающих // Зоол. журнал. 2003. Т. 84, № 4. С. 443–449.
5. Macdonald D.W., Newman C. Population dynamics of badgers (*Meles meles* L.) in Oxfordshire, U.K.: numbers, density and cohort life histories, and a possible role of climate change in population growth // Journal of Zoology. 2002. Т. 256. № 1. С. 121–138.

6. Новиков Г.А. Полевые исследования по экологии наземных позвоночных. М.: Изд. АН, 1953. 499 с.

7. Сидорчук Н.В. Характеристика поселений барсука в Дарвинском государственном биосферном заповеднике // Вестник Череповецкого государственного университета. 2003. № 2. - С. 13-18.

**Н. В. Васина, А.А. Петрунина**

## ВЛИЯНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ АЗОСПИРИЛЛ НА СОДЕРЖАНИЕ ПЕРОКСИДАЗ И ОКСИДА АЗОТА (NO) В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ

Механизм межклеточного узнавания лежит в основе целого ряда важнейших процессов коммуникации, таких, как например узнавания растением фитопатогенных или симбиотических микроорганизмов. Прикрепление бактериальных клеток к растущему кончику корневого волоска растения индуцирует определенные сигнальные системы и запускает защитные ответы растения [1]. При этом важную роль в этих процессах играют накопление активных форм кислорода (АФК) и активных форм азота (АФА), которые могут выполнять сигнальную роль[2].

Таким образом, целью нашей работы было определить динамику изменения содержания пероксидаз и оксида азота (NO) в проростках пшеницы под влиянием липополисахаридов (ЛПС) азоспирилл.

Объектом исследования служили яровая мягкая пшеница сортов Саратовская-29 и Добрыня.

Для выполнения поставленной цели в работе были использованы препараты ЛПС *Azospirillum brasilense* штаммов SR55 и SR109, а также *A. thiophilum* BV-S.

Определение содержания пероксидаз [3] и оксида азота [4] проводили спектрофотометрически. Все эксперименты проводили в трех биологических и трех аналитических последовательностях, полученные результаты представлены в виде средних и их квадратичных отклонений.

Было показано, что на третьи сутки в корнях общее содержание пероксидаз составляло 0,1 мкг/мл экстракта (рисунок 1А). По мере прорастания, содержание изменялось, на четвертый день оно снижалось примерно в два раза. На пятые сутки содержание пероксидаз увеличивалось, до значений сравнимых с первоначальными значениями, на шестые сутки наблюдалось снова снижение, до значений сходных с четвертыми сутками. Добавление ЛПС азоспирилл к среде культивирования приводило к количественному изменению содержания пероксидаз в проростках пшеницы. При этом сохранялась общая картина динамики. Однако следует отметить, что ЛПС разных штаммов отличались по действию на содержание пероксидаз. Добавление в среду культивирования ЛПС штамма SR55 приводило к снижению содержания пероксидаз на третьи и пятые сутки по сравнению с контрольным образцом. При добавлении ЛПС штамма SR109 отмечено понижение активности пероксидаз на пятые сутки по сравнению с контрольным образцом, в остальные дни активность увеличивалась.

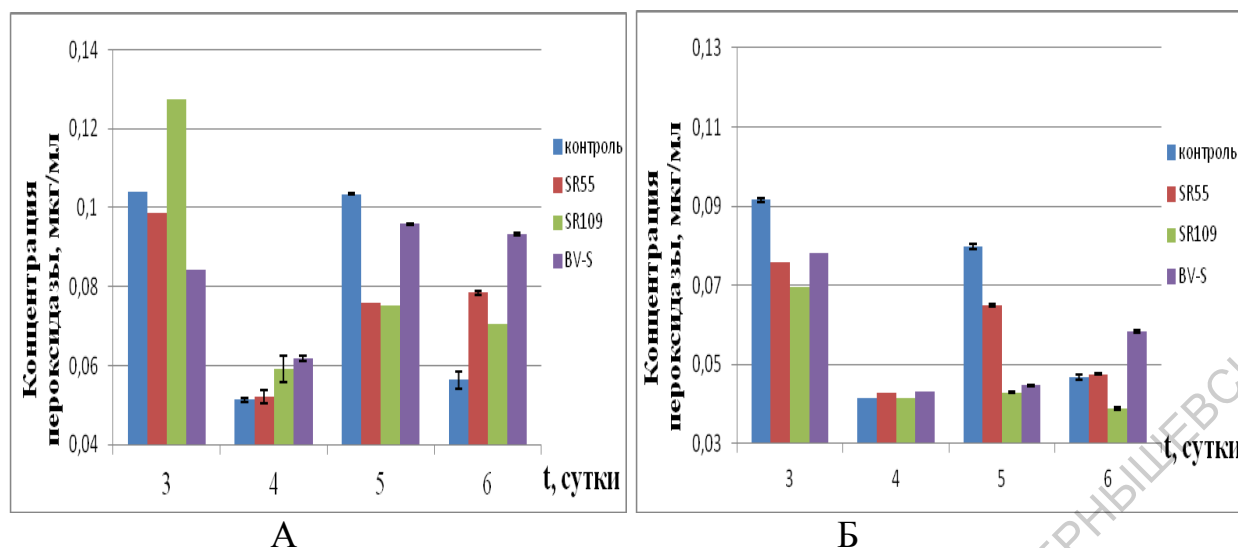


Рис. 1. Активность пероксидаз в проростках пшеницы сортов Саратовская-29 (А) и Добрыня (Б)

Добавление ЛПС штамма BV-S приводило к увеличению активности пероксидаз в корнях на четвертые и шестые сутки.

В ряде работ указывается, что разные сорта пшеницы отличаются по синтезу вторичных метаболитов. Поэтому на следующем этапе работы мы провели сравнительный анализ динамики содержания пероксидаз у проростков пшеницы сорта Добрыня.

На рисунке 1Б показано, что общая картина динамики концентрации пероксидаз сохраняется, как и в случае с пшеницей сорта Саратовская-29. Хотя общее содержание ее было несколько ниже.

Внесение ЛПС в среду прорастания зерновок пшеницы сорта Добрыня привело к количественным изменениям содержания пероксидаз при сохранении общей динамики. Следует отметить, что в случае добавления ЛПС штамма SR55 содержание пероксидаз возрастало на пятые сутки, но было ниже контрольных значений, и практически сравнялось с контрольным образцом на шестые сутки. При этом ЛПС штамма BV-S иначе влияли на динамику содержания пероксидаз. На пятые сутки концентрация пероксидаз не изменялась, по сравнению с предыдущими сутками, а на шестые сутки увеличивалась, превышая контрольные значения.

Важной составляющей в регуляции ответа растений на биотический стресс, в частности на взаимодействие с ризосферными микроорганизмами, является синтез АФА, в том числе оксида азота (NO), который принимает участие в регуляции целого ряда физиологических процессов, протекающих в растении [5], в том числе обеспечивает формирование системного ответа на биогенный стресс.

Мы исследовали динамику изменения содержания NO в проростках пшеницы Саратовская-29 и Добрыня.

Образцы пшеницы сорта Саратовская-29, в которые добавляли ЛПС азоспирилл, практически не отличались по содержанию NO, как между собой, так и по сравнению с контрольным образцом. Единственным исключением

было небольшое увеличение содержания NO под действием ЛПС бактерий штамма BV-S к концу эксперимента.

В проростках пшеницы сорта Добрыня начальное содержание NO приблизительно на 20 % выше, чем в проростках пшеницы Саратовская-29. На четвертые сутки оно снижалась, хотя следует отметить, что все описанные изменения в контрольном эксперименте не превышали 10%, что свидетельствует об относительном постоянстве содержания NO в процессе прорастания зерновок. Кроме того, добавление в среду культивирования ЛПС бактерий не оказывало существенного влияния на содержание NO в корнях проростков пшеницы сорта Добрыня, за исключением ЛПС штамма SR55, который вызвал увеличение содержания на шестые сутки.

Полученные нами результаты показывают, что ЛПС исследованных штаммов азоспирилл при воздействии на проростки пшеницы не приводили к значимым изменениям содержания NO в корнях. Однако, этот вопрос требует дополнительного исследования, поскольку в литературе есть сведения о том, что скорость ферментативной продукции NO зависит от силы стрессового воздействия.

Таким образом, нами было показано, что содержание пероксидаз в корнях проростков пшеницы сортов Саратовская-29 и Добрыня имеют волновую динамику, которая при действии препаратов ЛПС азоспирилл сохраняется. Выявлены количественные изменения содержания пероксидаз в корнях проростков пшеницы под действием ЛПС. Обнаружены сортовые различия содержания пероксидаз и NO в корнях проростков пшеницы. Отмечено относительное постоянство содержания NO при прорастании пшеницы в контроле и в присутствии препаратов ЛПС азоспирилл.

Научный руководитель - канд. биол. наук, доцент А.А. Галицкая.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Васильева Г. Г.* Физиологическая роль кальция при бобово-ризобиальном симбиозе / Г. Г. Васильева, А.А. Ищенко, А.К. Глянько // 2011. С. 399-410.
2. *Дмитриевой, А. П.* Сигнальная роль оксида азота у растений / А. П. Дмитриев Генетика и цитология // 2004. №4. С.67-75.
3. *Азнабаева Л. Ф.* Способ определения пероксидазной активности в биологических жидкостях / Л. Ф. Азнабаева, Ф. А. Кильсенбаева, Н. А. Арефьева // Патент RU 2180114 Башкирский гос. мед. унив. 2002
4. *Zhou B., Guo Z., Xing J., Huang B.* Nitric Oxide Is Involved in Abscisic Acid-induced Antioxidant Activities In *Stylosanthes squianensis* // J. Exp. Bot. 2005. V.56, № 422. P. 3223-3228.
5. *Глянько А.К.* Физиологическая роль оксида азота (NO) у растительных организмов / А.К. Глянько, Н.Б. Митанова, А.В. Степанов // Журнал стресс-физиологии и биохимии. 2009. Т.5, № 3. С. 33 – 52.

## РОЛЬ БЕЛКОВ ГЕМАТО-ЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА В РАЗВИТИИ МОЗГОВЫХ ГЕМОРАГИЙ У НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС

В современной России мозговые или интракраниальные геморрагии (ИКГ) являются одним из десяти причин смерти у младенцев, в течение первой недели после рождения [1-3].

Одной из проблем при терапии ИКГ у новорожденных является непреодолимость гемато-энцефалического барьера (ГЭБ) для препаратов [4].

Гемато-энцефалический барьер - высокоорганизованная морфофункциональная система, выполняющая барьерную функцию, выполняемая эндотелиоцитами церебральных капилляров, глией и астроцитами [5]. Важная роль в регуляции транспорта веществ через ГЭБ отводят белкам ГЭБ, в частности, оклудину и клаудину-5 [7]. Данные белки являются ключевыми факторами, ограничивающими возможность фармакотерапии при развитии геморрагического инсульта (ГИ) у новорожденных [8].

Целью данной работы явилось изучение экспрессии барьерных белков при развитии ИКГ у новорожденных крыс.

ИКГ вызывали путем воздействия на животных сильного шумового стресса (прерывистый звук силой 120 дБ, 370 Гц) в течение 2-х часов по следующему алгоритму: 10 сек звук, 60 сек перерыв.

Эксперименты проводили на 30 крысах 2-3 дня после рождения, которые были разделены на 2 группы. Первая группа (n-15) служила контролем (интактные животные), вторая группа (n-15) животные с ИКГ (24 часа после стресса).

Наличие ИКГ подтверждали гистологическим и фотоакустическим методами. Изменения в мозговом кровотоке оценивали с применением метода лазерной спекл-визуализации.

Экспрессия оклудина и клаудина-5 изучалась с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ*.

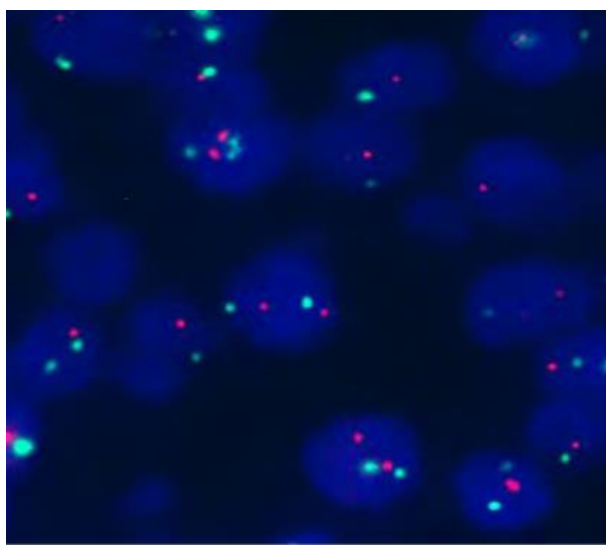
Гистологические и оптические исследования дали сопоставимые результаты, которые позволили определить, что у новорожденных крыс шумовой стресс вызывал развитие множественных мелкоочаговых кровоизлияний в коре и подкорковых структурах мозга, а также расширение сагиттального синуса и повышением перфузии как в зоне макроциркуляции, так и микроциркуляции, по сравнению со здоровыми животными.

Отсутствие разрыва церебральных сосудов и маленькие размеры геморрагий свидетельствуют о том, что кровоизлияния происходили за счет повышения проницаемости сосудов, т.е. так называемые диапедезные геморрагии.

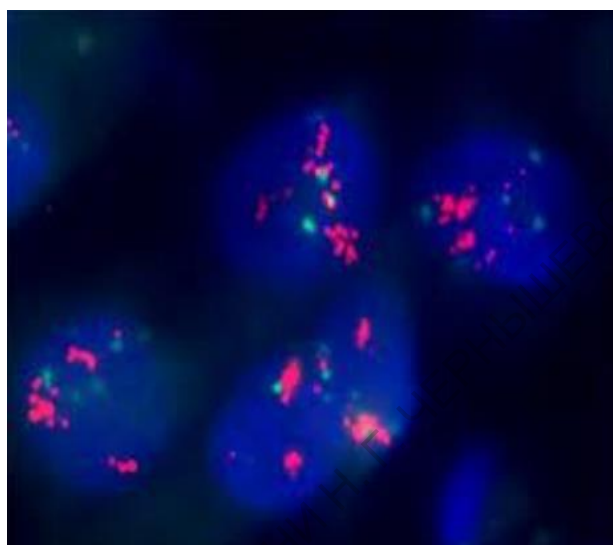
Результаты гистологии подтверждаются фотоакустическим методом. С помощью данного метода мы можем наблюдать развитие диапедезных кровоизлияний.

Флуоресцентная гибридизация *in situ* позволила выявить, что развитие интракраниальных геморрагий сопровождалось повышением экспрессии

клаудина-5, особенно в церебральных сосудах коры больших полушарий, по сравнению с оклудином, что, возможно, связано с особенностями созревания структурных элементов гематоэнцефалического барьера.



А



Б

Рис. Изображение экспрессии оклудина (голубой цвет) и клаудина-5 (розовый цвет) в тканях мозга новорожденных крыс в условиях нормы (слева) и на фоне ГИ (справа) определенная методом флуоресцентной гибридизации ДНК in situ

Непреодолимость гемато-энцефалического барьера для препаратов является основной проблемой лечения неонатального геморрагического инсульта. Понимание основных механизмов реализации барьерных свойств клаудина-5 и оклудина, а также регуляции проницаемости ГЭБ для макромолекул может способствовать созданию новых высокоэффективных средств для диагностики терапии ГИ у новорожденных.

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор О.В. Семячкина-Глушковская.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Go A. S.* Heart disease and stroke statistics - 2013 update: A report from the American Heart Association // *Circulation*. 2013. Vol. 127. P. 6-245.
2. *Fox, C. K.* High critical care usage due to pediatric stroke: Results of a population-based study// *Neurology*. 2012. Vol. 79. P. 420–427.
3. *Gandhi. S. K.* Temporal trends in incidence and long-term case fatality of stroke among children from 1994 to 2007 // *Neurology*. 2012. Vol. 78. P. 1923–1929.
4. *Wolburg H.* Modulation of tight junction structure in blood-brain barrier endothelial cells. Effects of tissue culture, second messengers and cocultured astrocytes // *Journal of Cell Science*. 1994. Vol. 107. P. 1347–1357.



5. *Joo F.* Endothelial cells of the brain and other organsystems: some similarities and differences // *Neurobiol.* 1996. Vol. 48. P. 255–273.
6. *Weiss N.* The blood-brain barrier in brain homeostasis and neurological diseases // *Biochim Biophys Acta.* 2009. Vol. 4. P. 842–857.
7. *Banks W. A.* The blood-brain barrier and immune function and dysfunction // *Neurobiology.* 2010. Vol. 1. P. 26–32.
8. *Crone C.* Electrical resistance of brain microvascular endothelium // *Brain Res.* 1982. Vol. 241. P. 49–55.

***Е.Ю. Жданова***

### ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ И КУПИРОВАНИИ ЕЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

Измерение электрических свойств тканей и клеток нашло широкое применение при изучении нормального функционирования организма, а также при патологических состояниях. Электрические показатели (сопротивление и электропроводность) клеток и тканей в норме величины постоянные и любые нарушения в них неразрывно связаны с изменением электрических параметров, указывая на их жизнеспособность (Ремизов, 2003).

Жизнеспособность клеток организма напрямую зависит от состояния их мембран, а если быть точнее – от проницаемости их билипидного слоя (Терехова, 1975). Одним из наиболее распространенных механизмов деструкции мембранных структур является активация перекисного окисления липидов, регистрируемая при стрессах, инфекциях, действии ядов, радиации. Регистрация изменения электропроводности позволяет определить начало и конец патологического процесса (Тарусов, 1989).

Поэтому целью нашего исследования было определение динамики изменения электросопротивления эритроцитов крови на разных стадиях развития раневой инфекции и при купировании ее биологически активными веществами.

Эксперимент проводился на беспородных самках белых крыс массой  $250 \pm 100$  г. Всем животным под наркозом моделировали гнойную рану. Для этого иссекали кожу с подкожной сетчаткой размером  $1 \times 1$  см, затем в рану вводили марлевый тампон, содержащий 1 млрд. микробных клеток суточной культуры *Staphylococcus aureus* 592 и рану ушивали. Заражение осуществлялось в течение 48 часов. Крыс содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище.

Для проведения эксперимента все крысы были разделены на 9 групп (по 4 особи в каждой) по характеру воздействия (контроль, 3 группы без лечения – выводили на 3, 10, 18 сутки, купировали хлоргексидином (контроль во второй части эксперимента), водными растворами наночастиц серебра и меди, пантоленом, флавоноидами).

В качестве материала для исследования использовали отмытые эритроциты.

Оценку состояния биомембран эритроцитов проводили методом импедансометрии. Дисперсию импеданса изучали при помощи установки, состоящей из генератора сигналов Г6-27, цифрового вольтметра В7-27 А/1, блока питания К762 и измерительной кюветы. Эритроциты помещали в измерительную кювету, через которую пропускаться переменный ток. Измерение  $U_{in}$  и  $U_{out}$ , измеряемое в мВ, производилось на частотах 5, 10, 20, 50, 100, 200 кГц. Значение величины импеданса в Ом вычислялось по формуле (Берестовский, 1997)

Эксперимент был условно разделен на 2 части: было интересно отметить первое - динамику изменения электрических показателей на разных этапах развития инфекционного процесса (рис. 1) и второе - в условиях купирования раневого процесса биологически активными веществами (рис. 2).

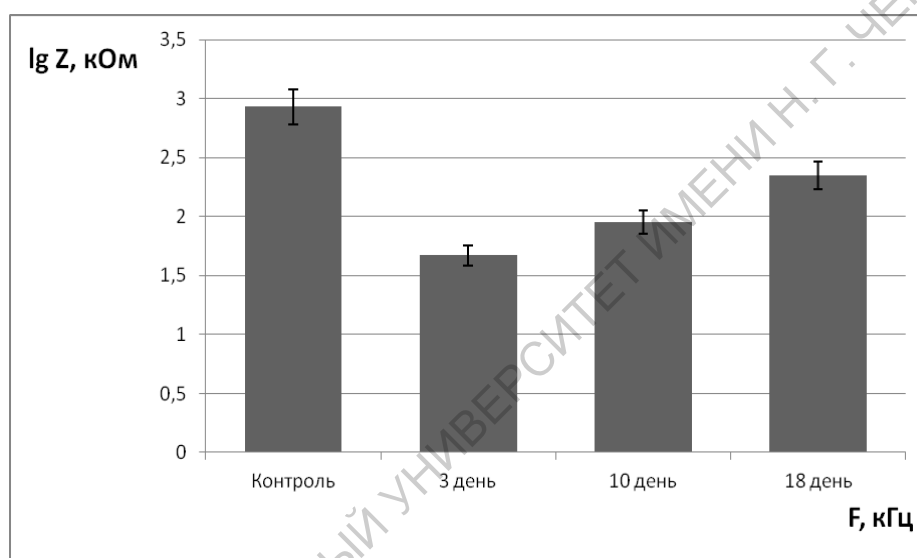


Рис. 1. Динамика изменения импеданса эритроцитов при частоте 200 кГц в зависимости от количества прошедших суток.

На рисунке 1 представлена гистограмма, которая показывает, что величины сопротивления в эритроцитах на всех стадиях инфекционного процесса располагаются достоверно ниже значений интактных крыс. Можно предположить, что к 18 дню эксперимента электропроводность эритроцитов крыс, оставленных без лечения, остается высокой за счет того, что мембраны эритроцитов не стабилизируются за такой короткий срок. Это может свидетельствовать о том, что развитие инфекционного процесса сопровождается выбросом большого количества заряженных ионов. Падение сопротивления в этих образцах и, соответственно, увеличение электропроводности связано с активацией процесса перекисидации, вызванного с развитием инфекционного процесса, что приводит к нарушению целостности мембран.

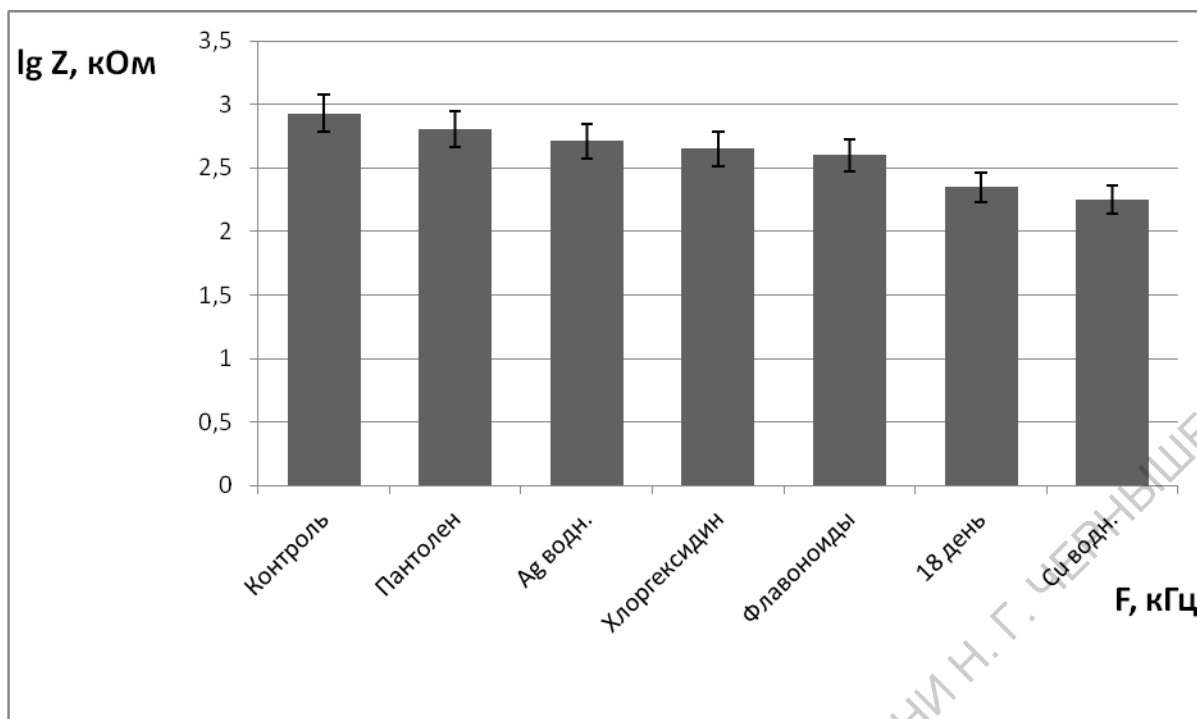


Рис. 2. Динамика изменения импеданса эритроцитов при частоте 200 кГц при купировании раневой инфекции биологически активными веществами

Из диаграммы, представленной на рисунке 2 видно, что купирование поверхности раневой инфекции приводит к более быстрому ее заживлению по сравнению с группой, оставленной без лечения (18 день). В группах крыс, обрабатываемых водным раствором серебра, пантоленом и флавоноидами достоверных различий с контрольной группой и группой, которую купировали широко распространенным антисептиком хлоргексидином не выявлено. Это может свидетельствовать о том, что при использовании этих растворов происходит не только быстрое заживление поверхностной раны, но и идут глубокие процессы восстановления целостности мембран, что в свою очередь приводит к изменению электрических показателей (электропроводность падает, т.к. повышается сопротивление) эритроцитов. Величина сопротивления подтверждает, что инфекционный процесс медленно заканчивается и наступает выздоровление. При купировании крыс водным раствором меди величины импеданса эритроцитарной массы к 18 дню увеличились незначительно. Высокую электропроводность можно объяснить тем, что в водных растворах медь находится в виде катионов, обладающих своей высокой электропроводностью, и их присутствие может сказываться на величинах сопротивления эритроцитов.

Подводя итог проведенным экспериментам можно заключить, что впервые получены достоверные результаты доказывающие, что развитие раневой инфекции сопровождается изменениями электрические показателей эритроцитов. Купирование раневой инфекции растворами, содержащими пантолен, флавоноиды и наночастицы серебра приводит как к быстрому заживлению ран, так и к восстановлению до нормы значений сопротивления

эритроцитарной массы наравне с хлоргексидином. Впервые показано применение раствора пантолена для более быстрого заживления раны.

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент И. К. Миронова

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ремизов А.Н., Максина А.Г., Потапенко А.Я. Медицинская и биологическая физика. - М.: Изд-во «Дрофа», 2003. – 560 с.
2. Терехова Л.Г. Определение величин электрических характеристик крови человека и животных. Основы электроплетизмографии. М.: Изд-во «Медицина», 1975. - 198–200 с.
3. Тарусов Б.Н., Колье О.Р. Биофизика. - М.: Изд-во «Высшая школа», 1989. - 310 с.
4. Берестовский Г.Н. Новые физические методы в биологических исследованиях. – М.: Наука, 1997. – 546 с.

### **В.В. Запорожская**

#### ОСОБЕННОСТИ ФЕНОЛОГИИ *AEGOPODIUM PODAGRARIA* L.

Познание сезонности развития растений – фенологии – является одним из наиболее необходимых звеньев изучения флоры и растительности. Задачей фенологии является не просто констатация прохождения фенофаз у растений, но и выявление взаимосвязей в ритме явлений природы.

Объект исследования – *Aegopodium podagraria* Linnaeus, почвопокровное, теневыносливое, многолетнее травянистое растение.

Данный вид представляет интерес в теоретическом и практическом планах, но многие аспекты не изучались ранее, чем и обусловлена актуальность работы.

Цель исследования: выявить особенности развития *Aegopodium podagraria* L. для дальнейшего использования при озеленении территорий региона Нижнего Поволжья.

Задачи исследования:

1. Изучить ритмы развития сныти обыкновенной.
2. Сравнить ритмы развития растения в пределах г. Саратова (Саратовская область) и г. Котово (Волгоградская область).

Новизна данной работы состоит в том, что фенология *Aegopodium podagraria* L. в Саратовской области мало изучена. Продолжительное время сныть считается трудно искореняемым сорняком. Наше исследование позволяет взглянуть на это растение с другой стороны и найти ему полезное применение в качестве городского озеленителя.

Изучение ритмов развития сныти обыкновенной проводится по общепринятой методике ГБС РАН, взаимосвязь фаз развития с суммами эффективных температур изучалась по методике И.Н. Бейдеман [1]. В течение

2014 и 2015 гг. исследовали следующие параметры: дата отрастания, бутонизация, цветение (начало, массовое, конец), конец вегетации. Наблюдение за сезонным ритмом развития сныти обыкновенной проводилось в двух населенных пунктах. Первый – опытные площадки в ботаническом саду г. Саратова; второй – природное местообитание в районе г. Котово Волгоградской области. Для изучения были взяты особи, произрастающие в полутени. Были вычислены суммы эффективных температур ( $\sum t_{эф}$ ) наступления фенофаз.

Положительная температура в нашей зоне накапливается при устойчивой температуре воздуха + 5°C.

Сныть характеризуется отмирающими на зиму побегами. Активное отрастание наступает в период с 10 по 16 апреля (табл.).

Таблица

Феноритм сныти обыкновенной

Фенофазы	Саратовская область				Волгоградская область			
	2014		2015		2014		2015	
	$\sum t_{эф}$ , (C°)	Дата	$\sum t_{эф}$ , (C°)	Дата	$\sum t_{эф}$ , (C°)	Дата	$\sum t_{эф}$ , (C°)	Дата
В1	215	16.04	219	16.04	238	16.04	241	10.04
Б	724	13.05	717	19.05	716	13.05	724	11.05
Ц1	841	17.05	834	24.05	838	21.05	840	18.05
Ц	1182	31.05	1169	05.06	1143	01.06	1159	30.05
Ц2	1848	29.06	1844	28.06	1857	30.06	1853	23.06
Л <sup>2</sup>	4387	05.11	4363	04.11	4505	08.11	5788	12.11

Сумма эффективных температур, необходимая для наступления этой фазы колеблется от 215 до 241 градусов. При этом сумма эффективных температур в условиях г. Саратова в среднем составляет 217 C°, в условиях г. Котово – 240 C°.

Фаза «бутонизация» отмечена в сроки с 11 по 19 мая при сумме эффективных температур от 716 до 724 градусов. Начало бутонизации в Саратове колеблется с 13 – 19 мая при сумме эффективных температур 721 C° (в среднем), в Котово – с 11 - 13 мая при сумме эффективных температур 720 C°.

Наступление фазы «цветение» отмечено с 17 мая по 30 июня. Начало цветения отмечено в период с 17 – 24 мая при сумме эффективных температур 834 – 841 C°. Раннее цветение отмечено в Саратове 17 мая ( $\sum t_{эф}$  841 C°), наиболее позднее тоже зарегистрировано в Саратове 24 мая ( $\sum t_{эф}$  834 C°). В окрестностях г. Котово начало цветения более выровнено при сумме температур в среднем 839 C°. Массовое цветение отмечено при сумме эффективных температур от 1157 – до 1176 C° (в Саратове при сумме эффективных температур 1176 C°, в Котово 1157 C°). Позднее наступление фазы отмечено в ботаническом саду в начале июня (05.06). Конец цветения наступает в третьей декаде июне. Разница в сумме эффективных температур между Саратовской и Волгоградской областями составляет 9 C°. Продолжительность цветения

составляет: в 2014 году 44 дня (Саратов) и 41 день (Котово); в 2015 году 36 дней (Саратов) и 37 дней (Котово).

После цветения, или, не дожидаясь окончания цветения, срезаются генеративные побеги, тем самым до конца вегетации у сныти сохраняется лиственно-декоративный эффект.

Конец вегетации в среднем отмечен в первой декаде ноября при сумме эффективных температур  $4363 - 5788\text{C}^0$ .

Разница между датами двух лет наблюдений составляет 7 дней.

Основными особенностями ритмики развития сныть в климатических условиях являются:

- Наступление фенофаз связано с погодными условиями конкретного года, но средние данные можно использовать для прогнозирования ритмики развития и применение в озеленении;

- Наиболее раннее отрастание при более высоких суммах эффективных температурах отмечается в г. Котово;

- Наступление фенофазы (начало цветения) является наиболее стабильным показателем адаптации сныть в г. Саратове;

- Отмечено одновременное окончание цветения сныти на исследованных участках.

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент М.В. Степанов; научный консультант – заведующий отделом интродукции цветочно-декоративных культур УНЦ «Ботанический сад» О.А. Егорова.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Бейдеман И.Н.* Методика изучения фенологии растений и растительных сообществ / *И.Н. Бейдеман.* Новосибирск: Наука, 1974. – 155 с.

*М.В. Корченова, В.Ю. Швайко*

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОРФИРИНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ИХ КОМПЛЕКСОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА III ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СИНЕГО (405 нм) ИЗЛУЧЕНИЯ НА МИКРООГАНИЗМЫ

Успех фотодинамической терапии, как в отношении раковых клеток, так и в отношении патогенных микроорганизмов зависит от удачного выбора фотосенсибилизатора [1-3]. В настоящее время идет активная разработка фотосенсибилизаторов нового поколения, отличающихся большим выходом синглетного кислорода и более эффективным образованием активных радикалов [4]. Основой для фотосенсибилизаторов нового поколения могут стать модифицированные порфириновые соединения и их комплексы с наночастицами оксида железа III.

Целью данного исследования стала оценка влияния порфириновых соединений и их комплексов с наночастицами оксида железа III при

фотодинамическом воздействии синего (405 нм) излучения на микроорганизмы.

Экспериментальные исследования проводили на базе кафедры биохимии и биофизики Саратовского государственного университета.

В качестве исследуемых микроорганизмов были использованы метициллин-чувствительный штамм *Staphylococcus aureus* (MSSA) и метициллин-устойчивый *S. aureus* (MRSA, ГИСК им. Л.А. Трасевича, г. Москва). Микроорганизмы выращивали при температуре 37 °С на ГРМ-агаре (Россия, г. Оболенск).

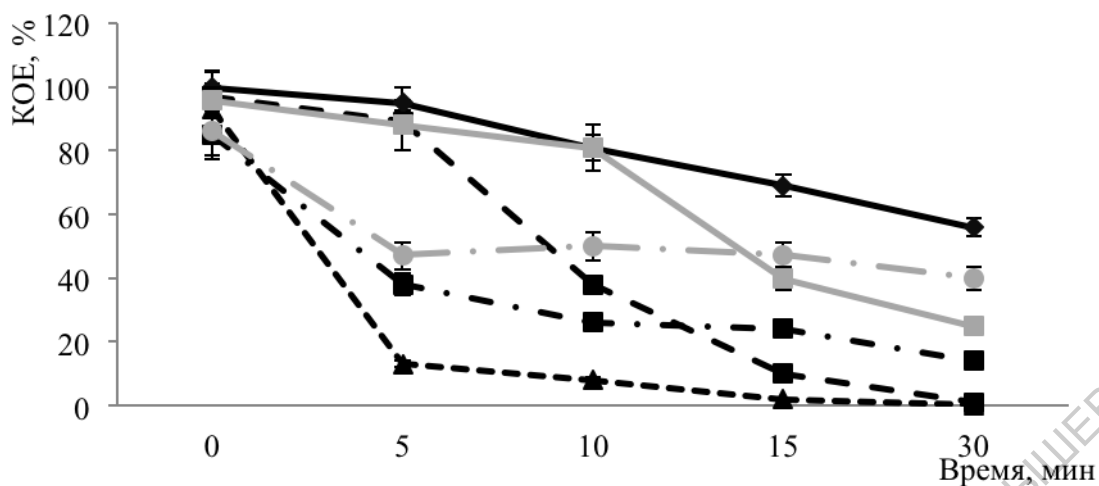
В качестве источника излучения использовали светодиод с максимумом спектра испускания  $\lambda=405$  нм и плотностью мощности 70 мВт/см<sup>2</sup>. Во всех экспериментах режим излучения был непрерывный. Время облучения варьировали от 5 до 30 мин. В качестве фотосенсибилизаторов использовали порфириновые соединения, наночастицы оксида железа III и их комплексы в рабочей концентрации 0,1 мкг/мл. Для проведения экспериментов использовали стандартную методику [5].

В ходе исследования была проведена оценка чувствительности 2-х штаммов *S. aureus* к комплексному воздействию синего (405 нм) светодиодного излучения и порфириновых соединений.

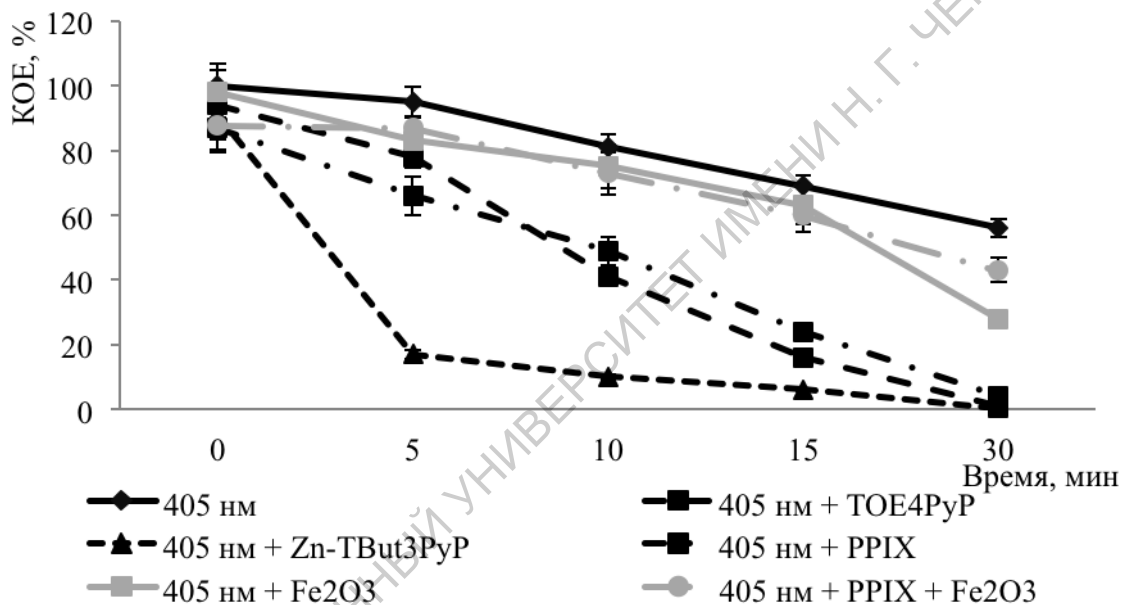
Было установлено, что облучение чувствительного к антибиотику стафилококка в течение 10-30 мин после обработки катионным порфирином (ТОEt4PyP) снижало число КОЕ на 60-99% (рис.). При использовании цинкового порфирина (Zn-TBut3PyP) время облучения от 5 до 30 мин снижало число КОЕ на 80-99%. При обработке клеток протопорфирином IX (PPIX) после первых 10 мин облучения было отмечено сокращению числа КОЕ на 62-74%, дальнейшее увеличение времени до 30 мин сокращало численность бактерий на 86%. Сходное действие оказывали порфириновые соединения на устойчивый к антибиотику штамм стафилококка.

Представляло интерес изучить эффективность комплекса наночастиц оксида железа и протопорфирина в сочетании с фотодинамическим воздействием. Облучение чувствительного к антибиотику стафилококка в течение 5-30 мин снижало число КОЕ на 50-60%. В ходе обработки метициллин-чувствительного стафилококка комплексом было отмечено менее выраженное сокращению числа КОЕ: увеличение экспозиции от 5 до 30 мин снижало число КОЕ на 13-57% (см. рис.1).

Анализируя полученные результаты, можно заключить, что исследуемые фотосенсибилизаторы в сочетании с излучением обеспечивали эффективную деструкцию микроорганизмов. При этом снижение численности бактерий во всех случаях носило дозозависимый характер.



А



Б

Рис. Изменение численности микроорганизмов при использовании порфириновых соединений и их комплексов с наночастицами оксида железа III при фотодинамическом воздействии синего (405 нм) излучения: А – MSA, Б – MRSA

В последнее время особое внимание уделяется синтезу модифицированных фотосенсибилизаторов на основе наночастиц и их комплексов с порфириновыми соединениями [4]. Однако использование комплекса оксида железа III с протопорфирином IX оказало незначительный антимикробный эффект по сравнению другими использованными в работе фотосенсибилизаторами.

В работе были использованы новые катионные порфирины и металлопорфирины. Наибольшую эффективность продемонстрировал металлопорфирин, содержащий Zn, и бутиловый радикал в 3-м положении пиридинного кольца: при его использовании снижение числа КОЕ микроорганизмов было выражено уже после 5 мин облучения (на 87%), а к 30 мин достигало 99%.



Таким образом, использование современных модифицированных порфиринов является весьма перспективным в сочетании с излучением синего спектра для эффективного подавления роста микроорганизмов как чувствительных, так и устойчивых к антибиотикам.

Научный руководитель – канд. биол. наук Е.С.Тучина

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Bonnett R.* Photosensitizers of the porphyrins and phthalocyanine series for photodynamic therapy // *Chem. Soc. Rev.* 1995. Vol. 24. P. 19-33.
2. *Wainwright M.* Photodynamic antimicrobial chemotherapy // *J. Antimicrob. Chemotherapy.* 1998. Vol. 42. P. 13-28.
3. *Hamblin M.R., Hasan T.* Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? // *J. of Photochem. Photobiol.* 2004. Vol. 3. P. 436–450.
4. *Yin R., Hamblin M.R.* Antimicrobial Photosensitizers: Drug Discovery Under the Spotlight // *Curr. Med. Chem.* 2015. Vol. 22. P. 2159-2185.
5. *Тучина Е.С.* и др. Фотодинамическое воздействие красного (625 нм) излучения на бактерии вида *Propionibacterium acnes*, обработанные фотосенсибилизатором // *Естественные и технические науки.* – 2008. – Т. 34. – С. 90-93.

**Т.А. Крицкая, А.О. Попова, А.С. Пархоменко**

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ ПОПУЛЯЦИЯМИ И ВИДАМИ CHONDRILLA (ASTERACEAE) ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ ПО ДАННЫМ ISSR МАРКИРОВАНИЯ

Таксономическая структура рода *Chondrilla* разными авторами понимается по-разному [1-6], а морфологический анализ не позволяет однозначно решить проблему статуса ряда таксономических единиц рода [7]. Поэтому цель данной работы состояла в выявлении генетической дифференциации видов рода на европейской части России с помощью молекулярно-генетических (ISSR) маркеров.

Объектами изучения являлись *Chondrilla ambigua* Fisch. ex Kar. et Kir. 1842, *C. acantholepis* Bross. 1849, *C. brevirostris* Fisch. et Mey. 1837, *C. canescens* Kar. et Kir. 1842, *C. graminea* Vieb. 1808, *C. juncea* L. 1753, *C. latifolia* Vieb. 1808) [6] из Саратовской, Волгоградской, Астраханской и Ростовской областей, Краснодарского края и Республики Крым.

Тотальную ДНК выделяли из лепестков, высушенных в силикагеле, с использованием набора реактивов и колонок NucleoSpin® Plant II (Macherey-Nagel, Germany) согласно протоколу производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в амплификаторе Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany) по стандартным методикам [8].

Итоговая матрица включала 127 маркеров и 69 образцов из 21 локалитета 7 видов *Chondrilla*. Размер ампликонов находился в пределах от 300 до 4000 п.н. Количество бэндов, воспроизводимых одним праймером, составило от 5 до 15. У *C. ambigua* выявлено 14 уникальных фрагментов, не встречающихся больше ни у одного вида, 9 – являлись общими только для *C. ambigua* и *C. brevirostris*.

Наиболее полиморфными оказались локалитеты *graminea*-1 из Базарно-Карабулакского р-на Саратовской обл., а также *juncea*-1 из того же района и *juncea*-2 из Камышинского р-на Волгоградской обл. и смешанные *juncea* и *graminea*-2 из Краснокутского и 6 – Саратовского р-нов. Самыми генетически бедными – *juncea* / *graminea*-9 из Балаковского р-на, а также *ambigua*-2 из Харабалинского, *brevirostris*-1 из Ахтубинского р-нов Астраханской обл.

Кластерный анализ (UPGMA) показал, что 7 видов *Chondrilla* составляют два основных кластера с высокой бутстреп поддержкой (индекс бутстрепа 100%) как при использовании коэффициента Жаккара, так при расчётах по Дайсу (рис.). Первый кластер делится на две клады, из которых одну составляют образцы *C. ambigua*, вторую – *C. brevirostris*. Второй основной кластер образовали все остальные особи пяти изучаемых видов *Chondrilla*, сгруппированных в соответствии со своими локалитетами, из которых они были собраны. Интересно, что некоторые особи или группы особей получали бóльшую бутстреп поддержку в пределах одного локалитета, чем локалитеты между собой. Возможно, это связано со способностью растений большинства представителей рода воспроизводить семена путём апомиксиса [9]. Перенос генов у апомиктов затруднен из-за выпадения стадии оплодотворения в развитии семени и клоновым характером наследования в ряду поколений.

Неукорененное дерево, построенное методом Neighbour Joining, и анализ методом главных координат (PCoA) имеют сходную топологию с результатами кластерного анализа. Образцы *C. acantholepis*, *C. canescens*, *C. graminea*, *C. juncea*, *C. latifolia* и смесь *C. juncea* и *C. graminea* образуют единый большой кластер, а *C. ambigua* и *C. brevirostris* составили хорошо выраженные неперекрывающиеся группы.

Результаты байесовского анализа в программе Structure (вероятность отнесения исследованных 69 образцов видов *Chondrilla* к одной из групп по составу ISSR-ампликонов для значений  $K$  от 10 до 12) показывают, что в обоих случаях образцы *C. ambigua* и *C. brevirostris* объединяются программой в один кластер (0.95). В самостоятельные кластеры также выделяются те же группы особей, которые получили высокую бутстреп поддержку на дендрограммах. Остальные локалитеты оказываются генетически смешанными, как правило, образованными образцами, относящимися к разным популяциям. В целом, результаты анализа в программе Structure дублируют результаты кластерного анализа.

Similarity

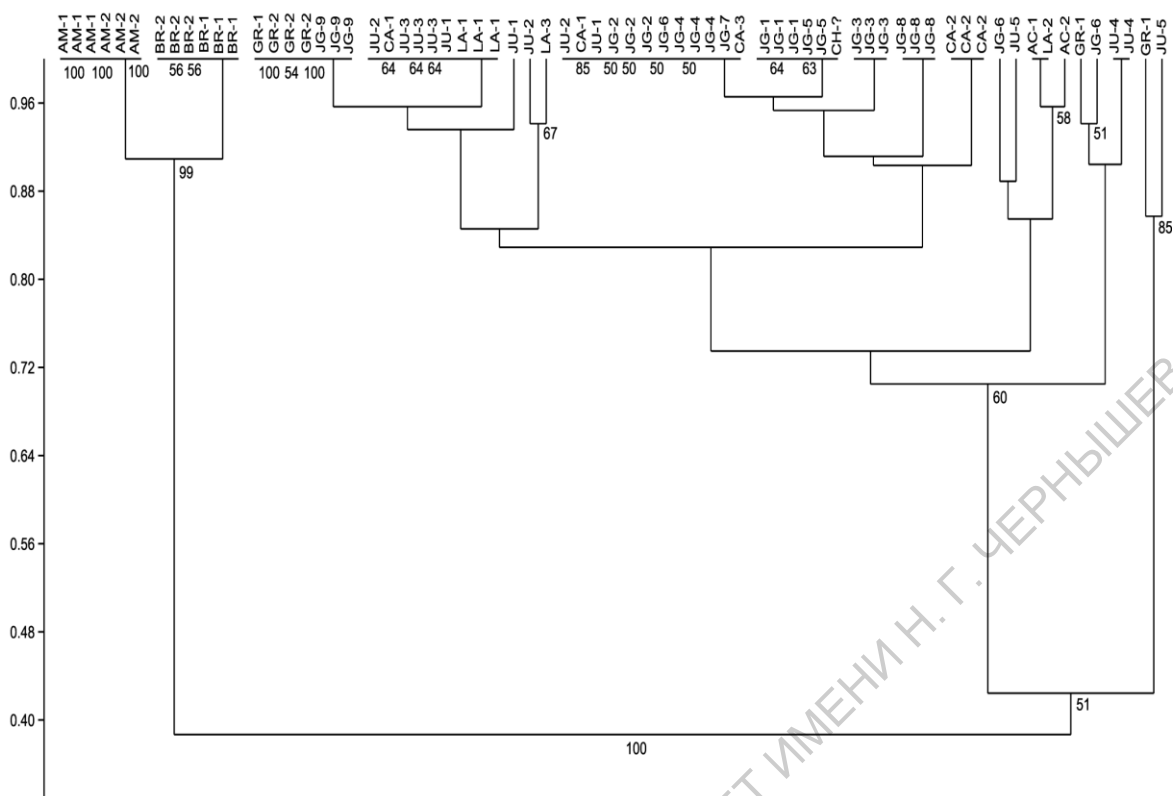


Рис. UPGMA дендрограмма, построенная на основе ISSR данных для 7 видов *Chondrilla* с использованием коэффициента Дайса: AC – *C. acantholepis*, AM – *C. ambigua*, BR – *C. brevirostris*, CA – *C. canescens*, GR – *C. graminea*, JU – *C. juncea*, JG – смесь *C. juncea* и *C. graminea*, LA – *C. latifolia*.

Тест Мантеля позволил выявить достоверную положительную корреляцию между матрицей попарных значений  $F_{ST}$  (индекс фиксации между популяциями в группе) и матрицей попарных географических расстояний между популяциями ( $r = 0.319$ ;  $p = 0.000$ ), что однозначно указывает на наличие современного потока генов между изученными локалитетами и ограничение этого потока географической изоляцией.

Сходство результатов, полученных при использовании четырех различных методов математического анализа, свидетельствует об их надежности.

Таким образом, в соответствии с этими результатами несомненна видовая самостоятельность *C. ambigua* и с меньшей вероятностью – *C. brevirostris*. В то же время они позволяют предположить, что *C. acantholepis*, *C. canescens*, *C. graminea*, *C. juncea*, *C. latifolia* не являются самостоятельными видами и, скорее всего, представляют собой таксоны более низкого ранга.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-04-04087).

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор А.С. Кашин.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Еленевский А.Г., Буланый Ю.И., Радыгина В.И. Конспект флоры Саратовской области. Саратов: ИЦ «Наука», 2008. 232 с.
2. Ильин М.М. *Chondrilla* L. // Бюлл. отдел. каучукон. 1930. № 3. С. 1–61.
3. Леонова Т.Г. Род Хондрилла – *Chondrilla* L. // Флора СССР. М.; Л.: Наука, 1964. С. 560–586.
4. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. 635 с.
5. Талиев В.И. Определитель высших растений Европейской части СССР. М.; Л.: Госиздат, 1928. 630 с.
6. Цвелёв Н.Н. Флора европейской части СССР. Т. 8. Л.: Наука, 1989. 412 с.
7. Кашин А.С., Петрова Н.А., Попова А.О., Шилова И.В., Полякова Ю.А. Морфологическая изменчивость в популяциях видов *Chondrilla* L. европейской части России // Известия Саратовского университета. Новая серия. 2016. Т. 16. Сер. Химия. Биология. Экология. Вып. 1. С. 80 – 90.
8. Куцев М.Г. Фрагментный анализ ДНК растений: RAPD, DAF ISSR. Барнаул: АРТИКА. – 2009. 164 с.
9. Кашин А.С., Попова А.О., Кочанова И.С., Угольников Е.В., и др. Некоторые параметры системы семенного размножения в популяциях видов *Chondrilla* L. Нижнего Поволжья // Бот. журн. 2015. Т.100. № 8. С. 828–840.

**А.Г. Кузнецов, Е.А. Подзоров**

### ПОДРОСТ КЛЕНА ОСТРОЛИСТНОГО ПОД ПОЛОГОМ НАГОРНЫХ ЛЕСОВ ПРИРОДНОГО ПАРКА «КУМЫСНАЯ ПОЛЯНА» Г. САРАТОВА

Традиционно при изучении возобновления леса рассматривается влияние лесорастительных условий, состава и сомкнутости материнского полога, мощности подстилки, состава и густоты травяного покрова, подлеска и ряда других факторов [1-4]. Мы попытались получить обобщенную картину естественного возобновления под пологом леса в рамках одного типичного природно-территориального комплекса природного парка «Кумысная поляна», включающего практически весь набор встречающихся в парке форм мезорельефа.

Наблюдения за подростом велись на 34-х постоянных учетных площадках размером 1х1 м, заложенных на дне оврага «Балагой», юго-восточном склоне и вершине внутреннего отрога рядом с оврагом. Растительность представлена спелыми насаждениями липы, дуба, осины. Незначительную площадь занимают березняки, кленовики и черноольшанники. Большая часть насаждений сомкнутые, но есть и низкополнотные участки, прогалины. На дне оврага сформировались, в основном, смешанные кленовики и липняки, а в нижней части оврага с постоянным водотоком – черноольшанники. На вершине, средней и нижней частях световых склонов отрога произрастают

низкопродуктивные дубняки. На плакоре и на теневых склонах отрога отмечены липняки, осинники и смешанные дубняки. Площадки были заложены в 2014 г., после семенного для дуба 2013 г.

Все площадки были сгруппированы в шесть групп по мезоформам рельефа. Самой многочисленной группой являются плакоры, верхние и нижние части склонов световых экспозиций. В год закладки площадок фиксировались только живые особи подроста, на них вешалась бирка с постоянным номером. В 2015 г. фиксировались отпавшие особи и всходы. Для периодизации онтогенеза использовалась общепринятая методика [5, 6]. При установлении жизненного состояния подроста в основу была положена классификация, предложенная А.А. Чистяковой [7].

Под пологом леса отмечено возобновление восьми древесных пород, наиболее многочисленное – клена остролистного (*Acer platanoides* Linnaeus, 1753). На одной площадке количество живых и отмерших особей всех пород варьировало от 2 до 64 шт., среднее значение – 13,1 шт. Количество живых особей всех пород на одной площадке варьировало от 2 до 25, среднее значение составляет 10,7 шт. Наибольшая густота подроста отмечается на теневых склонах (14,5) и на плакорах (13,5), но на теневых склонах значительно ниже вариация густоты. Наименьшая численность подроста отмечается на верхних частях световых склонов (4,2) и на дне оврага (5,5).

Количество живых особей *A. platanoides* на одной площадке варьировало от 1 до 21, среднее значение – 5,9 шт.

Подрост *A. platanoides* отмечен на 91 % площадок. Наибольшая густота подроста *A. platanoides* отмечается в нижней части световых склонов (10,3), а наименьшая численность, так же как у дуба черешчатого (*Quercus robur* Linnaeus, 1753), отмечается на верхних частях световых склонов (2,5), а также на дне оврага и теневых склонах (5,0).

Подрост *A. platanoides* отмечен всех возрастных состояний. Наиболее многочисленны имматурные особи первой подгруппы (49 %).

Отпад особей *A. platanoides*, в отличие от *Q. robur*, незначителен, наблюдался лишь на плакоре и составил 10 особей на 5 площадках из 31-ой. Отпавший подрост был всех возрастных состояний (таблица), за исключением всходов. Больше всего отпало ювенильных особей (50 %).

Таблица

Распределение подроста клена по возрастным состояниям

Возрастное состояние подроста	Живые особи		Отпавшие особи	
	шт.	%	шт.	%
im1	94	49,2	2	2,1
im2	3	1,6	1	33,3
j	50	26,2	5	10,0
pl	35	18,3	0,0	0,0
v1	2	1,0	1	50,0
v2	7	3,7	1	14,3
Итого	191	100	10	5,2

За один год наблюдений отпало всего 11,0 % всех учтенных в 2014 г. экземпляров подроста *A. platanoides*.

В отличие от *Q. robur* в 2015 году на учетных площадках зафиксированы всходы *A. platanoides*, численность которых составила 18,0 % от общего количества особей.

По жизненности подрост *A. platanoides* относится, в основном, к пониженной и низкой. В отличие от *Q. robur* встречаются особи нормальной жизненности, их доля составляет 15 %.

Стабильное состояние *A. platanoides* наблюдается на всех мезоформах рельефа, кроме плакоров, в отличие от *Q. robur*, у которого, наоборот, более стабильное состояние наблюдается на плато и склонах световых экспозиций.

Научный руководитель – канд. сел.-хоз. наук, доцент С.В. Кабанов.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Калиниченко Н. П. Дубравы России.– М.: ВНИИЦ-лесресурс, 2000.– 532 с.
2. Лосицкий К.Б. Дуб.– М.: Лесная промышленность, 1981.– 101 с.
3. Новосельцев В.Д., Бугаев В.А. Дубравы.– М.: Агропромиздат, 1985.– 214 с.
4. Яковлев А.С., Яковлев И.А. Дубравы Среднего Поволжья.– Йошкар-Ола: Изд-во Марийск. гос. техн. ун-та, 1999.– 326 с.
5. Ценопопуляции растений: Основные понятия и структура.– М.: Наука, 1976.– 216 с.
6. Ценопопуляции растений: Очерки популяционной биологии.– М.: Наука, 1988.– 183 с.
7. Восточноевропейские широколиственные леса / Р.В. Попадюк, А.А. Чистякова, С.И. Чумаченко и др.; Под ред. О.В. Смирновой.– М.: Наука, 1994.– 364 с.

**М.В. Лаврентьев**

### БОТАНИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА *HEDYSARUM GRANDIFLORUM* PALL. И ФИТОЦЕНОЗОВ С ЕГО УЧАСТИЕМ В ЮЖНОЙ ЧАСТИ ПРИВОЛЖСКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ

В настоящее время комплексный подход исследований в ботанике и экологии завоевывает все большее признание для всестороннего изучения видов, особенно редких и охраняемых. В их число входит копеечник крупноцветковый (*Hedysarum grandiflorum* Pall.) – кальцефильный многолетний стержнекорневой каудексовый поликарпик, занесённый в Красные книги Российской Федерации [1] и Саратовской области [2] с категорией 3 и статусом редкий вид. Он обитает на карбонатных породах и почвах. Подробное изучение его биологии и экологии в южной части Приволжской возвышенности проводится впервые. В свете подготовки к выходу третьего издания Красной

книги Саратовской области эти научные изыскания являются особенно актуальными.

Целью данной работы являлась ботанико-экологическая характеристика копеечника крупноцветкового, его популяций и фитоценозов с его участием в южной части Приволжской возвышенности. Для достижения поставленной цели решались следующие задачи: 1. Изучить морфологию копеечника и её изменчивость. 2. Охарактеризовать его репродукцию. 3. Дать характеристику местообитаний и адаптации к ним ценопопуляций. 4. Выявить особенности распространения и структуру ценопопуляций. 5. Провести флористический анализ фитоценозов с участием копеечника.

Район исследования расположен в южной части Приволжской возвышенности в административных границах Саратовской области. Исследования проходили в полевые сезоны в 2007–2014 гг. Сбор и обработка материалов осуществлялись по общепринятым методикам. Изучено 23 фитоценоза в местообитаниях с различными экологическими условиями, в которых было заложено более 600 учётных площадок.

Средние морфометрические признаки изученных растений соответствуют описанию П. С. Палласа. Уменьшение параметров признаков в некоторых случаях, особенно высоты растений и длины листа, чаще всего связано с антропогенным воздействием. Иногда происходит некоторое подавление роста отдельных особей. Наименее изменчивой и пластичной является длина венчика. Кластерный анализ выделил несколько групп и подгрупп ценопопуляций. В целом, изменения признаков особей происходят плавно на протяжении всего района исследования. Примерно у 2–3% растений копеечника венчик цветка неравномерно светло-розовый или реже светло-пурпурный. Некоторые учёные относят такие особи к *H. argyrophyllum*, но ни по равномерности окраски, ни по морфометрии эти особи не соответствуют морфологическим признакам копеечника серебристого. Образование их связано, вероятнее всего, с географической изоляцией и дрейфом генов, и часто описывается как цветовая вариация или, реже, как подвид. Таким образом, для особей копеечника характерна комплексная биоморфологическая неоднородность.

Были изучены вопросы репродукции копеечника. Пыльцевые зёрна одиночные, полярные, трёхбороздно-оровые, эллипсоидальные. Изменчивость их признаков не высокая. Наиболее крупными и при этом наименее изменчивыми и пластичными являются длина и диаметр зёрен. Доля дефектных зёрен составляет в среднем около 7.6%. Плоды копеечника – бобы – изогнутые, чётковидные, несколько выпуклые с боков, светло-зелёные. Высокая изменчивость длины плода связана с зависимостью её от числа члеников в бобе. В среднем в один боб включает 4.1 членик, при этом среднее количество развитых и оплодотворенных члеников равно 2.9. Коэффициент семенной продуктивности ценопопуляций равен 64.5%. Семена имеют плоско-выпуклую почковидную форму и окрашены в коричневый или тёмно-коричневый цвет. Уровень изменчивости и фитоценотическая пластичность признаков семян не высокие. Средняя масса 1000 семян составляет 3.51 грамма.

Вегетативно копеечник не размножается. Приживаемость развитого растения очень низка. Оптимальная температура прорастания семян 24°C. Всхожесть и энергия прорастания семян не высокие и быстро снижаются с годами хранения. Их скарификация позволяет улучшить эти показатели. Скорее всего, зимний период нужен для разрушения боба, как оболочки семени. Для изучения всхожести семян копеечника в искусственных условиях был проведён посев семян в деланки с различным грунтом. Развитие и преодоление онтогенетических состояний особями на всех деланках происходило быстрее, чем в естественной среде обитания. Редкость, декоративность и полезные свойства дают основания рекомендовать копеечник крупноцветковый к интродукции.

Ценопопуляции копеечника чаще всего встречаются в верхних частях склонов и на вершинах холмов. Изредка копеечник можно встретить на ровных участках рельефа и у обрывов. Крутизна склонов сильно переменчива и находится в пределах от 0° до 65°. Экспозиция расположения ценопопуляций чаще южная и юго-восточная. Копеечник формирует ценопопуляции на разнообразных карбонатных субстратах.

При помощи авторской пятибалльной шкалы стало возможным более корректно оценить жизненность ценопопуляций и соотнести жизненность ценопопуляций со средней глубиной залегания почвообразующей породы, увлажнением, богатством и засоленностью почвы. Экологическая амплитуда *H. grandiflorum* по большинству режимов является достаточно узкой. Анализ жизненных форм показал, что в районе исследования растения копеечника могут быть как в форме стержнекорневого травянистого многолетника, так и в форме полукустарничка, с преобладанием первого.

Пространственная структура характеризуется агрегированным типом размещения особей. При анализе структуры ценопопуляций выделяются три уровня скопления. В целом, от северо-востока к юго-западу численность особей и плотность ценопопуляций копеечника снижается, а площади ценопопуляций уменьшаются. Базовый онтогенетический спектр вида одновершинный, центрированный, с максимумом на зрелом генеративном состоянии. По классификации «дельта–омега» преобладающая часть популяций являются переходными и зрелыми. Большинство ценопопуляций копеечника крупноцветкового характеризуется средним уровнем жизненности, а по совокупности критериев популяции в районе исследования находятся в нормальном и устойчивом состоянии.

В фитоценозах с участием копеечника выявлено 153 вида сосудистых растений, относящихся к 109 родам и 40 семействам. Сходство флористических составов фитоценозов небольшое. Наиболее богаты видами семейства Asteraceae, Poaceae и Fabaceae. Доминирующее положение во всех фитоценозах занимают гемикриптофиты. Наибольшее число видов в изученных фитоценозах – травянистые многолетники, большинство из которых – стержнекорневые. Доминирующей ценоценотической группой являются степанты.

Кроме копеечника в фитоценозах найдено 26 охраняемых видов растений, занесённых в Красные книги Российской Федерации [1] и



Саратовской области [2]. Кроме того, было отмечено девять видов растений из Приложения Красной книги Саратовской области. Наибольшими значениями коэффициента природоохранной значимости характеризуются фитоценозы, находящиеся на северо-востоке и юго-западе района исследования. В среднем значение этого коэффициента для изученных фитоценозов соответствует высокому уровню природоохранной значимости.

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор В.А. Болдырев.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / Гл. редколл.: Ю. П. Трутнев и др.; Сост. Р. В. Камелин и др. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008. 855 с.

2. Красная книга Саратовской области: Грибы. Лишайники. Растения. Животные / Г. В. Шляхтин и др.; Комитет охраны окружающей среды и природопользования Саратов. обл. Саратов: Изд-во Торгово-промышленной палаты Саратов. обл., 2006. 528 с.

***И.Г. Литовченко***

### УЧАСТИЕ ЯБЛОННОЙ ТЛИ (*APHIS POMI DE GEER, 1773*) В РАСПРОСТРАНЕНИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ, ПОРАЖАЮЩИХ ПОБЕГИ ЯБЛОНЬ

Зеленая яблонная тля является экономически значимым вредителем яблонь в Саратовской области [1]. Известно участие яблонной тли в сохранении и распространении фитопатогенных бактерий, таких как *Erwinia amylovora* и *Pseudomonas syringae* [2]. Сведения о роли яблонной тли в распространении фитопатогенных грибов в литературе отсутствуют. В связи с этим, целью нашей работы стало изучение роли яблонной тли в сохранении и распространении фитопатогенных грибов, поражающих побеги яблонь.

Были исследованы насекомые из Саратовского, Энгельсского и Дергачевского районов Саратовской области. Всего было исследовано 30 побегов кормовых растений, 60 особей яблонной тли и 30 особей муравьев, которые были трофически связаны с колониями тли.

Видовую принадлежность грибов предварительно устанавливали по фенотипическим свойствам. Подтверждение видовой принадлежности изолятов проводили путем выявления видоспецифичных участков рибосомальных РНК методом ПЦР в институте фармацевтической биологии и биотехнологии (г. Дюсельдорф, Германия) и в лаборатории микологии и фитопатологии Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений (г. Санкт-Петербург).

При изучении влияния нормальной микрофлоры тли на фитопатогенные грибы были использованы штаммы *Bacillus pumilus*, *B. subtilis*, *B. clausii*, *B.*

*nealsoni*, *B. funiculus*, *B. halodurans*, выделенные ранее из организмов яблонной тли.

В результате проведенных исследований было установлено, что с поверхности побегов яблонь с признаками поражения микозами изолируются фитопатогенные грибы *Alternaria alternata*, *Phoma fungicola*, *Fusarium incarnatum equiseti*, *F. tricinctum*, *Trichoderma harzianum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *A. tubingensis*. Однако, далеко не все фитопатогенные грибы могут попадать в организм яблонной тли и сохраняться там. В наших исследованиях из яблонной тли изолировались лишь четыре вида грибов: *A. alternata*, *F. incarnatum-equiseti*, *A. niger* и *A. fumigatus*. Выделенные из тлей фитопатогенные грибы являются возбудителями аспергилезов, альтернариоза и фузариоза яблонь [3].

Наиболее часто встречаемым в организмах тлей видом фитопатогенных грибов был *A. niger*, который обнаруживался в 11,7% проб (таблица). Реже в организмах тлей регистрировались *A. alternata* и *F. incarnatum-equiseti*. (в 8,4 и 6,7% проб соответственно). Единично встречался *A. fumigatus* (в 1,7% проб). Количественные показатели содержания фитопатогенных грибов в пробах тлей были различны. *A. alternata* содержался в организмах насекомых всегда в большем количестве, чем другие виды фитопатогенных грибов –  $10^5$  КОЕ в пробе, что говорит о хорошей адаптированности этого фитопатогена к обитанию в организме яблонной тли. Для других видов этот показатель не превышал  $10^3$  КОЕ.

Наиболее часто фитопатогенные грибы изолировались в Саратовском районе, реже в Энгельском районе и совсем не выделялись из насекомых, собранных в Дергачёвском районе. Такая закономерность может быть связана с более засушливым климатом Энгельского и Дергачёвского районов.

Таблица

Встречаемость и количественное содержание возбудителей микозов яблонь в организмах яблонной тли в Саратовской области

Виды	Встречаемость в пробах, %	Количественное содержание в организме насекомых, КОЕ в пробе
<i>Alternaria alternata</i>	8,4	$10^5$
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,7	$10^3$
<i>A. niger</i>	11,7	$10^3$
<i>Fusarium incarnatum-equiseti</i>	6,7	$10^3$

Из каждого района исследовано по 10 комплексных проб состоящих из побегов яблонь, питающихся на них колониями яблонной тли и муравьёв. В Саратовском районе в четырёх случаях грибы не выделены ни из одного объекта. В 6 случаях грибы выделялись как минимум из одного объекта исследования.

В Энгельсском районе в восьми комплексных пробах грибы не выделялись, в одной пробе *A. niger* был изолирован как с побега, так и из организмов тлей и муравьёв, в другой пробе *A. alternata* был выделен из организмов тлей и с поверхности побегов.

Из муравьёв фитопатогенные грибы выделялись редко, причём это был только 1 вид – *A. niger*.

Таким образом, чаще всего из организмов яблонной тли изолировали один из грибов, обитающих на поверхности кормового растения. Однако в некоторых случаях грибы присутствовали на поверхности побега, но не изолировались из тлей. В двух случаях в организмах тлей находили виды, отсутствующие на кормовом растении. Это может быть следствием миграций тлей с одного кормового растения на другое. В результате возбудитель может переноситься с поражённого побега на здоровый.

При исследовании антагонистической активности бактерий-доминантов микробиоценозов яблонной тли выявлено, что *B. clausii* не подавляет рост и развитие фитопатогенных грибов. *B. pumilus* и *B. halodurans* проявляют антагонистическую активность по отношению к одному виду грибов: *A. niger* и *A. alternata* соответственно. Более активным оказался *B. nealsoni*, который подавлял 2 вида грибов – *A. fumigatus* и *A. niger*. Самая высокая антагонистическая активность обнаружена у *B. subtilis* по отношению к *F. incarnatum-eguiseti*, *A. fumigatus* и *A. alternata*.

Таким образом, доминанты нормальной микрофлоры тли могут подавлять рост и размножение фитопатогенных грибов, попавших в организм переносчика.

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент А.М. Петерсон.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Бей-Биенко Г.Я. Общая энтомология / Г.Я. Бей-Биенко. СПб: Проспект Науки, 2008. 486 с.
2. Nadarasah G. Insects as alternative hosts for phytopathogenic bacteria / G. Nadarasah, J. Stavrinos // Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews. 2011. Vol. 35. P. 555–575.
3. Фитопатология. Болезни древесных и кустарниковых пород / И. И. Минкевич, Т. Б. Дорофеева, В. Ф. Ковязин / Под общ. ред. И. И. Минкевича. СПб.: «Лань», 2011. 160 с.

**Ш.В. Магеррамов**

## ИЗУЧЕНИЕ МИКРОСПОРОГЕНЕЗА У РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ РАЗНОГО УРОВНЯ ПЛОИДНОСТИ

В селекции кукурузы важным направлением является получение и использование полиплоидных форм. Однако переход на другой уровень плоидности часто приводит к снижению фертильности. Цитоэмбриологические

исследования позволяют выявить причины стерильности и изменений в развитии генеративных структур. Исследования качества пыльцы у тетраплоидной кукурузы КрП-1 и полученных на ее основе триплоидных растений обнаружили достаточно широкий спектр отклонений в строении пыльцевых зерен по сравнению с диплоидными линиями [1, 2]. Среди них были выявлены пыльцевые зерна аномальной формы, не описанные ранее у кукурузы. Все это делает актуальным исследование особенностей микроспорогенеза у данных полиплоидных растений и определение его зависимости от уровня пloidности генома. В задачи исследования входило изучение у тетраплоидных и триплоидных растений кукурузы особенностей деления ядер и цитокинеза в мейозе и характеристика образующихся спорад микроспор.

Материалом послужили микроспороциты и споряды микроспор растений тетраплоидной формы кукурузы КрП-1 и триплоидных растений, полученных скрещиванием КрП-1×ГПЛ. В качестве контроля использовались данные диплоидных растений линии ГПЛ. Анализ микроспорогенеза проводили на временных препаратах, методика приготовления которых включала окраску ацетокармином и осветление в уксусной кислоте. Анализ препаратов проводился на микроскопе «Аxiostar-plus» при увеличении 10×40.

У линии ГПЛ мейоз проходил типично для злаков с образованием после 1-го мейоза диады, а после 2-го тетрады микроспор. Микроспороциты с нарушением мейоза у диплоидных растений единичны. У полиплоидных растений микроспороциты с нормальным мейозом также составляют значительную часть. Однако у всех полиплоидных растений зарегистрирован достаточно широкий спектр отклонений в ходе мейотических делений и тетрадогенеза (табл.).

*Таблица*

Результаты анализа микроспороцитов и спорад мкроспор у разноплоидных растений кукурузы

Вариант	Число проанализированных растений	Аномалии в микроспорогенезе, %					атипичная форма клеток
		мейоз		споряды			
		кариокинез	цитокинез	атипичные тетрады	монады, диады, триады	пентады, гексады, гептады	
КрП-1, 4n	14	6,4	47,4	10,9	3,1	2,2	6,1
КрП-1 × ГПЛ, 3n	7	1,2	4,1	3,1	1,2	0,3	1,3
ГПЛ, 2n	5	0,0	1,5	0,0	1,5	0,5	0,0

Аномалии при расхождении хромосом встречаются на всех стадиях мейотического цикла. У тетраплоидных растений они представлены: слипанием и отстаиванием хромосом, их разбросом по веретену деления, нарушением ориентации веретен деления, трехполюсными делениями и др. Эти нарушения часто являются причиной неравного распределения хромосом по полюсам клетки и образованием ядер и клеток с измененным хромосомным

балансом. У разных тетраплоидных растений частота нарушений расхождения хромосом варьировала от 4 до 12 %. Частота нарушений кариокинеза у триплоидных растений значительно меньше и в среднем составила 1,2 %. У триплоидов не были обнаружены такие аномалии как трехполосные митозы и слияние веретен деления.

Среди различных вариантов нарушений цитокинеза у тетраплоидов можно выделить два основных, с наиболее значимыми последствиями для развития микроспор и пыльцы. Это: отсутствие цитокинеза после первого и/или второго деления мейоза и неполное заложение перегородок в виде насечек в центре клетки или с внешней стороны. Такие аномалии чаще наблюдались у тетраплоидов после первого деления мейоза, причем в основном встречались микроспороциты с неполным заложением перегородок. Общее количество нарушений цитокинеза у разных растений варьировало от 9 до 69 %. У триплоидных растений цитокинез в виде насечек не обнаружен. Результатом различных вариаций карио- и цитокинеза у тетраплоидных и, в меньшей степени, триплоидных растений явились разнообразные аномальные споры. Вместо нормальных изобилатеральных тетрад микроспор, могли образовываться атипичные тетрады: линейные, т-образные, с различными косыми перегородками. Причиной их появления является изменение ориентации веретен во втором делении мейоза с параллельного (нормального) на перпендикулярное или диагональное. В большинстве случаев нарушения, изменяющие позиции веретен деления, являются инертными и не влияют на дальнейшее развитие предшественников пыльцы.

Появление спор с увеличенным числом клеток указывает, прежде всего, на нарушения распределения хромосом в микроспороцитах. У тетраплоидных растений обнаружены пентады, гексады и даже гептады. У триплоидов – только пентады. У некоторых растений образовывались монады, диады и триады микроспор. Такие микроспоры могли содержать реституционные ядра, и тогда все клетки были одноядерными, или, в результате угнетения цитокинеза, появлялись клетки с двумя и более ядрами. Такие микроспоры являются потенциальными источниками увеличения плоидности пыльцы. Считается, что причиной блокировки цитокинеза или неполного цитокинеза могут быть нарушения формирования цитоскелетных структур, а именно системы микротрубочек веретен деления [3].

Возможно, нарушения цитоскелета также являются причиной появления у всех исследованных тетраплоидных и триплоидных растений микроспороцитов аномально удлиненной формы, иногда с перетяжками цитоплазмы. Это предположение основывается на данных о функциях цитоскелета, одна из которых – определение формы клетки. Такие аномальные микроспороциты обнаружены на разных стадиях мейотических делений, начиная с профазы первого деления. Микроспоры аномальной формы зарегистрированы в тетрадах, диадах, триадах и пентадах. У тетраплоидных растений частота микроспороцитов и микроспор атипичной формы у разных растений варьировало от 0,8 до 16,1%, а у триплоидов - от 0,8 до 2,2 %.

Особенностью микроспорогенеза триплоидных растений является массовая дегенерация клеток, начиная со стадии профазы первого деления мейоза. Эта дегенерация может отбраковывать огромное количество микроспороцитов с несбалансированным набором хромосом. Возможно, именно поэтому у триплоидных растений обнаружено относительно мало нарушений в ходе мейотических делений и тетрадогенеза.

Таким образом, обнаруженные в мейозе полиплоидных растений нарушения цито- и кариокинеза являются причиной образования аномальных микроспор, которые имеют биологически значимые последствия и ведут к появлению нередуцированной, анеуплоидной или стерильной пыльцы. Различия тетраплоидных и триплоидных растений по качественным признакам микроспорогенеза носят принципиальный характер, которые следует учитывать в селекционной работе.

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент Л.П. Лобанова.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Лобанова Л.П., Колесова А.Ю., Анохина И.С., Долотова Н.Л. Особенности развития пыльцы у тетраплоидной кукурузы // Бюллетень ботанического сада Саратовского государственного университета. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2010. Вып. 9. С. 156 –161.

2. Колесова А.Ю., Лобанова Л.П. Цитозембриологическое изучение триплоидных растений кукурузы // Бюллетень ботанического сада Саратовского государственного университета. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2015. Вып. 13. С. 155 -161.

3. Шамина Н.В. Динамика микротрубочкового цитоскелета в ходе деления растительной клетки: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск, 2004. 36 с.

**М.А. Макашова, А.А. Буданова**

### ВЫЯВЛЕНИЕ АЛЛЕРГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ЗАВОДСКОГО РАЙОНА Г. САРАТОВА С ПОМОЩЬЮ ПЫЛЬЦЕВОГО МОНИТОРИНГА И ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ ПЫЛЬЦЫ *CANNABIS SATIVA*

В последнее время по всему миру фиксируется рост проявлений аллергических реакций на пыльцу растений. В нашем городе по результатам тридцатилетних наблюдений прослеживается аналогичная тенденция по распространению поллинозов [1]. По этой причине в РФ реализуется проект «Пыльцевой мониторинг», в рамках которого была выполнена данная работа в сотрудничестве с Аллергологическим центром г. Саратова [2].

Целью работы было выявление аллергенных растений Заводского района г. Саратова и дальнейшее исследование иммуногенности пыльцы *Cannabis sativa* L., 1753, как одного из доминирующих аллергенных растений.

Аэропалинологический мониторинг проводился с помощью импакторного волнометрического пылеуловителя Lanzoni VPPS 2010. Наблюдения проводились с июня по сентябрь 2015 г., в результате которых было проанализировано 111 препаратов, соответствующих взятым пробам воздуха.

Для исследования иммуногенности пыльцы *C. sativa* проводилась экстракция аллергенов с помощью двух буферов (1 – фосфатно-солевой буфер и 1М NaCl в соотношении 1:1; 2 – буфер, с добавлением детергентов (Triton X-100, EDTA), солюбилизирующих поверхностные антигены [3]). Эффективность экстракции сравнивали методами дот - и твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) в полистирольном планшете [3]. Для обоих анализов применялся прямой неконкурентный метод. Сбор пыльцевого материала *C. sativa* проводился в черте города и хранили при 4<sup>0</sup>С. Для проведения анализов использовали сыворотки пациентов, страдающих аллергией на данный вид растения, и реагенты (RIDA Allergy Screen, "R-BIOPHARM", Германия).

Аэропалинологический мониторинг проводился в несколько этапов. На первом - осуществлялся сбор пыльцы растений и спор грибов, содержащихся в воздухе. По окончании сбора материала изготавливались постоянные препараты с окраской фуксином для лучшей визуализации пыльцы при микроскопировании. Затем производилась идентификация пыльцевых зерен по методическим пособиям и подсчет пыльцевых зерен в препарате [4-6]. Результаты заносились в протокол с пересчетом количества пыльцевых зерен на 1 м<sup>3</sup> с помощью поправочного коэффициента. Актуальные данные по пылению аллергенных таксонов в нашем городе размещали на сайте вышеупомянутого проекта [2]. По окончании мониторинга результаты были представлены в виде наглядного календаря пыления аллергенных растений.

Исследование охватило вторую и третью волны пыления (июнь-июль, август-сентябрь). Вторую волну характеризовало уменьшение концентрации пыльцы древесной растительности и увеличение концентрации травянистой. Доминирующими таксонами среди деревьев являлись лещина (29%), береза (14%), липа (12%); среди трав - крапива (44%), конопля (20%), злаки (13%). Третья волна характеризовалась полным доминированием пыления травянистой растительности, наибольший вклад вносили астровые (43%), маревые (22%), конопля и циклахена (по 13%). Судя по динамике пыления, амброзия, не являясь аборигенным растением нашего региона, расширяет свой ареал. На следующем этапе работы производилась экстракция аллергенов из пыльцы *C. sativa*. Учитывая, что сбор пыльцы для экстракции аллергенов является длительным и трудоемким процессом, провели исследование эффективности извлечения аллергенов из пыльцевого материала разной степени очистки (от растительных примесей) двумя вариантами буферных растворов. В результате получено четыре варианта экстрактов: 1 - чистая пыльца и буфер 1; 2 - чистая пыльца и буфер 2; 3 - загрязненная листьями пыльца и буфер 1; 4 - загрязненная листьями пыльца и буфер 2.

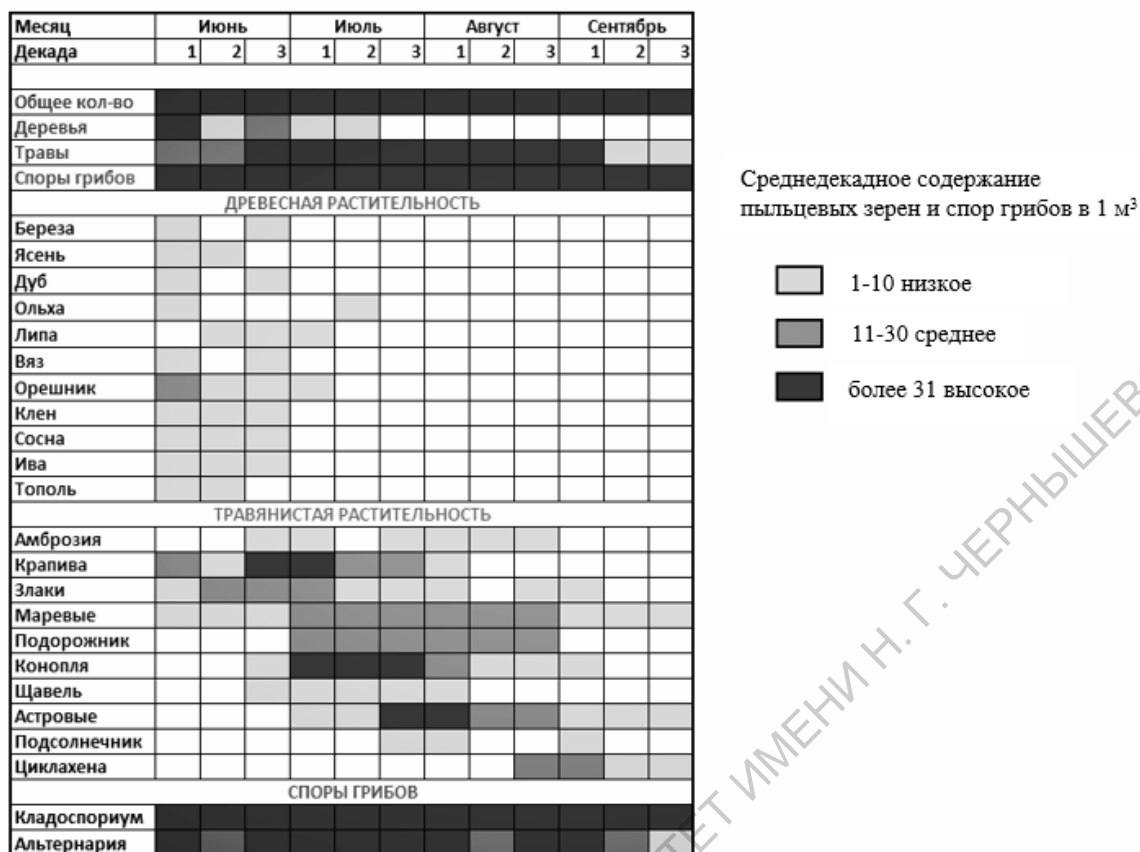


Рис. Календарь пыления аллергенных растений Заводского района г. Саратова за июнь-сентябрь 2015 года

Для характеристики полученных экстрактов проводился дот-анализ на нитроцеллюлозной мембране и твердофазный ИФА в полистирольном планшете.

По результатам дот - анализа все четыре экстракта обладали положительной реакцией на содержание аллергенов. В третьем образце заметна желто-зеленая окраска, что связано с экстракцией пигментов, содержащихся в листьях, чего не наблюдалось в 4 образце. Можно сделать вывод, примесь листьев не оказывает существенного влияния на возможность выявления аллергенов в дот - анализе. При использовании препаратов пыльцы, загрязненных листьями, можно исключить попадание пигментов в экстракт, если использовать буфер 2. Твердофазный ИФА показал положительную реакцию, получен количественный титр препаратов, но с довольно малыми значениями. Возможно, это связано с низким уровнем содержания IgE в сыворотке больных, поскольку они были получены у пациентов не в фазе хронического воспалительного аллергического заболевания.

Авторы выражают благодарность Аллергологическому центру г. Саратова за предоставленные сыворотки больных и реагенты для ИФА.

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор С.А. Коннова; научный консультант – канд. биол. наук, руководитель ЦКП «Симбиоз» ИБФРМ РАН (г. Саратов) А.А. Широков.



## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Астафьева Н. Г., Удовиченко Е. Н., Гамова И. В. и др. Пыльцевая аллергия в Саратовской области // РАЖ. 2010. № 1. С. 17–25
2. Пыльцевой мониторинг: сайт ООО «Такеда Фармасьютикалс». [Электронный ресурс]. URL: <http://www.kestine.ru/monitoring.aspx> (дата обращения: 24.04.2016).
3. Практические занятия по физико-химическим методам исследования полимеров: учеб.-метод. пособие для студентов-химиков / Г. Л. Бурьгин, Л. Ю. Матора, Е. Н. Сигида, С.Ю. Щеголев; под ред. С. Ю. Щеголева. Саратов: Изд-во «Новый ветер», 2013. 54 с.
4. Куприянова Л. А., Алешина Л. А. Пыльца и споры растений флоры европейской части СССР: Т. 1. Л.: Наука, 1972. 172 с.
5. Куприянова Л. А., Алешина Л. А. Пыльца и споры двудольных растений флоры европейской части СССР: Т. 1. Л.: Наука, 1978. 174 с.
6. Учебно-методическое пособие по палинологии / А. А. Чигуряева, И. Г. Колоскова, В. С. Дайковский. Саратов: Изд-во СГУ, 1987. 127 с.

**M. Sh. Minjal**

### MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SEED OF SOME PROTECTED SPECIES OF *IRIS* (IRIDACEAE) IN SARATOV REGION

Genus *Iris* L. belongs to Iridaceae Juss. plant family. In the flora of Russia it includes 38 species and one subspecies. According to the Russian Federation Red Book as well as Republican, territorial and regional one 25 species of *Iris* are considered as protected plants in Russia [2], all species of *Iris* in Russia must be protected (including 10 –15 species at the federal level). As described in the Red Book of Saratov region [3] seven species of *Iris* have been recorded: *Iris aphylla* L., *I. halophila* Pall., *I. pineticola* Klokov, *Iris pseudacorus* L, *I. pumila* L. (Figure), *I. sibirica* L. and *I. tenuifolia* Pall.

Therefore, for preservation of these plant species it is necessary to introduce them in extensive research and literature. Studying seeds of these plants are an important part of that and should be directly connected with the survival opportunities of these plants species.

Plant materials (seeds) of these three species of *Iris* were requested from botanical garden of Saratov state university. Morphological characteristics of the seeds have been described according to [1] and on Harris's terminology [4]. Hand sectioning of seed has already been stored in ethanol 70% for at least 15 days to soften them [5] with some modifications. Dissecting ZEISS STEMI 2000-c microscope and Nikon camera S2500 were used to picture the seed features. The dimensions of the seed components were measured by means of an electronic scale (Anchor digital caliper 0–150 mm) and the seed mass was measured with electronic balance DL-300.

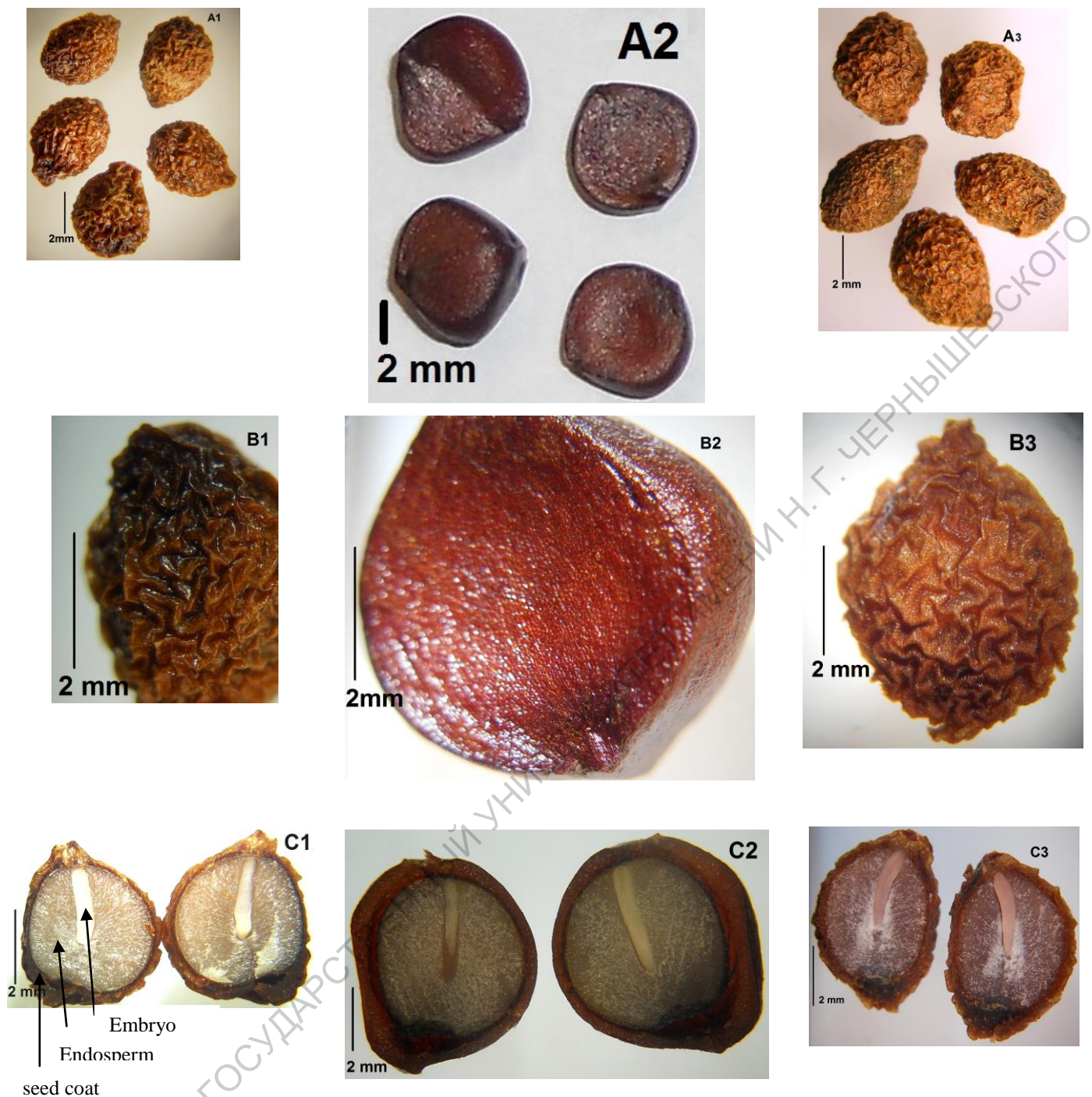


Fig. Seed components by dissecting microscopy of entire seeds (A1, *Iris aphylla*, A2, *I. pseudacorus*, A3, *I. pumila*). Seed coat sculpturing (B1. Ruminated in *I. aphylla*. B2, Pitted in *I. pseudacorus*. B3, Rugose in *I. pumila*). longitudinal hand sections (C1, *I. aphylla*. C2, *I. pseudacorus*. C3, *I. pumila*).

Results shows that there are stable and clear differences between the studied characteristics of seed, we can use it to separate the closely related plant taxa, especially when we compare the full set or complex of these characteristics at the same time

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор В.А. Болдырев.

## REFERENCES

1. *Артюшенко З. Т.* Атлас по описательной морфологии высших растений. Семя. Л., 1990. 204 с.
2. *Алексеева Н. Б.* Виды рода *Iris L.* во флоре России. Проблемы охраны в природе и интродукции. Дис. канд. биол. наук. Спб., 2005. 229 с.
3. Красная книга Саратовской области: Грибы. Растения. Лишайники. Животные. /Комитет охраны окружающей среды и природопользования Саратов. обл. Саратов: Изд-во Торгово-промышленной палаты Саратов. обл., 2006. 528 с.
4. *Harris, J. G., Harris M. W.* (2nd. ed.). Plant identification terminology. Spring lake publishing. Spring Lake: Spring Lake Publishing, 1994. 206 p.
5. *Sass J. E.* Botanical microtechnique. Third edition. The Iowa State Univ. Press., 1958. 228 p.

***H. Mohamed***

### CHARACTERIZATION OF FUNGAL COMMUNITIES ASSOCIATED TO APPLE PLANT (*MALUS DOMISTICA*) IN SARATOV REGION

Fungal diversity research is not only important for basic science, but to understand the correlations between fungal community structure and functions. Human influences on the environment, such as pollution and chemical applications can affect fungal diversity. Also, agriculture can have a major impact on fungal communities in comparison to un-cultivated lands, resulting in either increases or decreases in abundance and biodiversity [1,2]. Secondary metabolites have a tremendous impact on society; some are exploited for their antibiotic and pharmaceutical activities, others are involved in disease interactions with plants or animals [3].

Fungal strains were isolated from apple shoots collected in 2014-2015 in Volga region at Saratov city, Russia. These fungi was identified by using a molecular biological protocol by DNA amplification and sequencing of the ITS region, Alt 1 and  $\beta$ -tubulin, followed by a BlastN search in the database. A phylogenetic tree that covers the highest number of homologous sequences in the database was generated. According to 18S rDNA gene sequence we found 100% and 99% homology to identified fungi.

Optical rotations were determined on a Perkin-Elmer-241 MC polarimeter.  $^1\text{H}$  NMR spectra were recorded at 25°C in different solvents on a Bruker ARX 300-600 NMR spectrometer. Mass spectra were measured by an LC-MS HP1100 Agilent Finnigan LCQ Deca XP Thermoquest, and high resolution mass spectra (HRESIMS) were recorded on a FTHRMS-Orbitrap (Thermo Finnigan) mass spectrometer. HPLC analysis was performed with a Dionex P580 system coupled to a photodiode array detector (UVD340S). The detection was set at 235, 254, 280, and 340 nm. The analytical column (125 mm 4 mm, Li.d.) was prefilled with Europhere 10 C18 (Knauer, Germany). HPLC separation was performed on a semi-preparative HPLC system of LachromMerck Hitachi (pump L7100; UV detector L7400; column

Europere 100 C18, 300 mm 8 mm, Knauer, Germany) with a flow rate of 5.0 mL/min. Column chromatography was performed using Merck MN silica gel 60 M (0.04–0.063 mm) or Sephadex LH-20 as stationary phase. For TLC analyses and preparative TLC precoated silica gel 60 F254 plates (Merck) were used followed by detection under UV 254 and 366 nm or after spraying with anisaldehyde reagent. Solvents were distilled before use, and spectral grade solvents were used for spectroscopic measurements.

Each fungus was grown separately on solid rice medium (100 g. commercially available rice was added 110 mL of distilled water and kept overnight prior to autoclaving) at room temperature under static conditions for 21 days. After incubation, 250 mL EtOAc was added flask and left overnight, followed by filtration. The extraction was done in three times. The EtOAc extract was combined and taken to dryness. The dry residue was partitioned between n-hexane and 90% MeOH. The 90% MeOH fraction was subjected to vacuum liquid chromatography (VLC) on silica gel employing a step gradient of hexane/ethyl acetate and dichloromethane/methanol. Some fungal fractions were subjected to size exclusion column chromatography over Sephadex LH-20 eluting with MeOH. The HPLC chromatogram was performed to show all compounds.

All fungal strains were isolated from apple shoots and identified by PCR amplification and sequencing of different three primers. The criteria for selection of strains based on BLAST search showing maximum homology percentage, query coverage, and lowest E values with newly endophytes isolated in this study. Results of BLASTn search in National Center of Biotechnology Information (NCBI) revealed that fungal strains were confirmed and listed in table. From the results it is shown that seven fungal strains isolated from apple shoots.

Table

Sequences of primers used for identification of fungi and their similarity

No	Fungal isolates	Primers	Description or sequence
1	<i>Phoma fungicola</i>	ITS 1 ITS 4	TCC GTA GGT GAA CCTG CGG TCCTCCGCTTATTGATATGC
2	<i>Fusarium tricinctum</i>		
3	<i>Aspergillus tubingensis</i>		
4	<i>Trichoderma harzianum</i>		
5	<i>Cladosporium cladosporioides</i>		
6	<i>Fusarium equiseti</i>	$\beta$ -tub T1 $\beta$ -tub T2	AACATGCGTGAGATTGTAAGT TAGTGACCCTTGGCCCAGTTG
7	<i>Alternaria alternata</i>	Alt-for. Alt-rev.	ATGCAGTTCACCACCATCGC ACGAGGGTGAYGTAGGCGTC

The fungal extracts was chromatographed over silica gel and Sephadex LH-20, followed by purification by semi-preparative HPLC to yield the known of some secondary metabolites. The peaks of the HPLC chromatogram were matched with the reference compound available in the database by UV-Visible spectrum. The peaks in the chromatogram having the same UV-Visible spectrum and retention time with that

of the reference compound was identified and confirmed by NMR named as Spiciferon A from *P. fungicola*, Enniatins A, Enniatin B, Enniatin G, Enniatin H, Gibepyrone B and Aureonitol, from *F. tricinctum*, Fonsecin, TMC 256 A1, Pyranonigrin A, Tensidol A, Tensidol B and Asperazine, from *A. tubingensis*, Citreoisocoumarinol, Cytosporin K and Aranorosinol B, from *T. harzianum*, 2-decylpent-2 enedioic acid, Cerebroside and Palitantin, from *C. cladosporioides*, zearalenone from *F. equiseti*, Alternariol, Altenusin, Talaroflavone, 2, 5-Dimethyl- 7-hydroxy-chromone, and Alternaric acid from *A. alternata*.

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент А.М.Петерсон.

## REFERENCES

1. Daniell H., Streatfield S.J., Wycoff K. Medical molecular farming: production of antibodies, biopharmaceuticals and edible vaccines in plants //Trends Plant Sci. 2001. № 6. P. 219-226.
2. Buckley D., Schmidt T. The structure of microbial communities in soil and the lasting impact of cultivation //Microb. Ecol. 2001. № 42. P. 11-21.
3. Fox M. E., Howlett B. J. Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology //Current Opinion in Microbiology. 2008. № 11. P. 481–487.

**О.А. Морозов**

## ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ АСПЕКТ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ УГРЕВОЙ СЫПИ

Современные клинические методы лечения угревой болезни имеют низкую рекомендательную силу в связи с неизбежным действием препаратов на микрофлору кожи человека. Фотодинамическая терапия угревой болезни актуальна в настоящее время в связи с тем, что обладает селективным спектром действия при ингибировании микроорганизмов вызывающих угревую болезнь, в частности, главного участника *Propionibacterium acne*. До сих пор не разработан протокол лечения угревой болезни с помощью фотодинамической терапии (ФДТ). Это связано с недостатком данных клинических исследований такого вида терапии *in vivo* и *in vitro* [1-6].

Целью нашей работы было исследование *in vitro* фотодинамического воздействия на микроорганизмы-резиденты облигатной микрофлоры кожи человека.

Экспериментальные исследования проводились на базе кафедры биохимии и биофизики, в лаборатории бактериологии НИЧ Саратовского национального исследовательского государственного университета, в период с 2013 по 2015 год.

В работе использовали следующие виды микроорганизмов: *Propionibacterium acnes* 1450, метициллин-чувствительные штаммы *Staphylococcus epidermidis* (MSSE) и *S. aureus* (MSSA), метициллин-резистентные штаммы *S. epidermidis* (MRSE) и *S. aureus* (MRSA). Культуры

микроорганизмов предоставлены СГМУ им. В.И. Разумовского (Саратов, Россия), ГИСК им. Л.А. Тарасевича (Москва, Россия), ИБФМ РАН (Пушино, Россия). *P. acnes* выращивали на тиогликолиевой среде (Оболенск, Россия) с 0,01% содержанием сывороточного альбумина человека (HSA, Sigma-Aldrich Co., USA), инкубировали при 37°C в анаэроостате (АЕ-01, IAI RAS) содержащем смесь N<sub>2</sub> и CO<sub>2</sub> (9:1). Для культивирования стафилококков использовали ГРМ-агар (Оболенск, Россия) и температуру инкубации 37°C.

В качестве источников излучения использовали синий ( $\lambda=405$  нм, 5-80 мВт/см<sup>2</sup>) и красный ( $\lambda=625$  нм, 33 мВт/см<sup>2</sup>) светодиоды, инфракрасный лазер ( $\lambda=805$  нм, 50 мВт/см<sup>2</sup>). В качестве фотосенсибилизаторов выступали метиленовый синий (МС) 0,025% на основе дистиллированной воды (МС+В) или смеси глицерина, этанола и воды (МС+ГС, 25:25:50), индоцианиновый зеленый (ИЗ) 0,1% на основе дистиллированной воды (ИЗ+В) или смеси глицерина этанола и воды (ИЗ+ГС, 25:45:30).

Для проведения экспериментов использовали схему, разработанную ранее [6]. Каждый опыт был проведен в 10-ти кратной повторности. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали t-критерий Стьюдента, достоверными считали различия при вероятности ошибки  $p < 0,05$ .

Установлено, что синее (405 нм) излучение снижает показатель КОЕ *P. acnes* до 47%. При этом показатели КОЕ других штаммов бактерий через 240 мин воздействия не превышают 41% (табл. 1).

Таблица

Динамика выживаемости микроорганизмов после 30 мин фотодинамического воздействия, КОЕ, %. Значение контроля равняется 100%

Исследуемый штамм	Параметры воздействия								
	405 нм	625 нм	625 нм, МС+В	625 нм, МС+ГС	405 + 625 нм	405 + 625 нм, МС+В	805 нм	805 нм, ИЗ+В	805 нм, ИЗ+ГС
<i>P. acnes</i>	47 ±2.1	30 ±1.3	3 ±0.1	2 ±0.1	61 ±2.8	2 ±0.1	43 ±1.9	10 ±0.4	35 ±1.6
<i>S. epidermidis</i> MS	28 ±1.3	109 ±4.9	9 ±0.4	3 ±0.1	74 ±3.5	2 ±0.1	98 ±4.4	98 ±4.6	31 ±1.4
<i>S. epidermidis</i> MR	41 ±1.8	112 ±5.1	2 ±0.1	15 ±0.7	70 ±3.3	2 ±0.1	50 ±2.4	116 ±5.2	12 ±0.5
<i>S. aureus</i> MS	38 ±1.7	74 ±3.3	12 ±0.5	9 ±0.4	67 ±3.2	2 ±0.1	79 ±2.3	25 ±1.2	21 ±0.9
<i>S. aureus</i> MR	35 ±1.6	64 ±2.9	8 ±0.3	15 ±0.7	130 ±6.1	3 ±0.1	82 ±3.8	19 ±0.8	13 ±0.6

Показано, что красное (625 нм) излучение снижает число КОЕ *P. acnes* через 30 мин до 30%. Численность *S. epidermidis* через 30 мин облучения возрастает до 109-112%. В сочетании с МС через 30 мин воздействия КОЕ всех штаммов не превышает 15% (см. табл. 1).

Комбинированное излучение (405 нм + 625 нм) через 30 мин вызывает снижение числа КОЕ *P. acnes* до 61%, *S. epidermidis* MS до 74%. Для *S. aureus*

*MR* характерна тенденция роста КОЕ до 130%. В сочетании с МС показатель КОЕ всех микроорганизмов не превышает 3% после 30 мин воздействия.

Инфракрасное лазерное излучение (805 нм) через 30 мин воздействия снижает показатель КОЕ *P. acnes* до 43%, при этом показатель КОЕ *S. epidermidis MS* и *S. epidermidis MR* составляет 98% и 50% соответственно. Эффективнее всего происходит снижение КОЕ до 13-35% при воздействии лазерного излучения после обработки клеток ИЗ в глицерин-спиртовом растворе.

Для разработки протоколов лечения угревой болезни требуется больше данных о механизмах действия компонентов фотодинамической терапии. Большинство исследователей проводят эксперименты *in vivo*, что не позволяет изучить отдельно взятые компоненты, в частности подобрать оптимальные варианты воздействия фотодинамической терапии на микрофлору кожи человека.

Использование синего излучения (405 нм) является оптимальным для воздействия на эндогенные порфирины бактериальных клеток, в том числе и *P. acnes*, спектр поглощения которых в пределах длин волн 400-220 нм, а так же 500-700 нм [3]. Красное (625 нм) излучения обладает выраженным ингибирующим действием на *P. acnes* и оказывает стимулирующее действие для *S. epidermidis*. Незначительно повышение КОЕ *S. epidermidis* можно объяснить преобладанием биостимуляции света над действием ФС.

Комбинированное действие (405+625 нм) излучения приводит к биостимуляции метициллин-устойчивого штамма *S. aureus*, это можно объяснить тем, что стафилококки, являясь обитателями верхнего слоя кожных покров, эволюционно приспособлены к такому излучению [1,2]. Воздействие инфракрасного (805 нм) лазерного излучения в сочетании с ИЗ в глицерин-спиртовом растворе, который позволяет лучше проникать красителю сквозь клеточную стенку бактерий, чем в водном растворе, и, обеспечивая стабильность ФС, дает выраженный фотодинамический эффект.

Таким образом, нами показано, что в результате фотодинамического воздействия можно добиться значительно снижения численности КОЕ *P. acnes*, и стимулировать рост облигатной микрофлоры тем самым восстановить нормальный симбиоз микрофлоры кожи человека, естественную защиту от заселения транзитными микроорганизмами.

Научный руководитель – канд. биол. наук Е.С. Тучина

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ali M. Rkein, David M. Ozog. Photodynamic Therapy // Dermatol. Clin. – 2014 – Vol. 32 – P. 415–425.
2. Bogdan A.I., Goldberg D.J. Basics in Dermatological Laser Applications // Curr. probl. dermatol. – 2011 – Vol. 42 – P. 140–146.
3. Razvigor D., Joachim W.F. Photodynamic therapy in dermatology: past, present, and future // Journal of Biomedical Optics. 2013. Vol. 18(6). P. 208–213.

4. Morton C. et al. European Dermatology Forum Guidelines on topical photodynamic therapy // Eur J Dermatol. 2015. Vol. 25(4). P. 296–311.

5. Wan M.T., Jennifer Y.L. Current evidence and applications of photodynamic therapy in dermatology // Clinical, cosmetic and investigational dermatology. 2014. Vol. 7(1). P. 145–163.

6. Khlebtsov B.N., Tuchina E.S., Khanadeev V.A., Panfilova E.V., Petrov P.O., Tuchin V.V., Khlebtsov N.G. Enhanced photoinactivation of *Staphylococcus aureus* with nanocomposites containing plasmonic particles and hematoporphyrin // Journal of Biophotonics. 2013. Vol. 6(4). P. 338–351.

**М.И. Никельшпарг, М.В. Лаврентьев**

ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАСЕКОМОГО-  
ГАЛЛОБРАЗОВАТЕЛЯ (НУМЕНОПТЕРА, СУНИПИДАЕ),  
РАЗВИВАЮЩЕГОСЯ НА ЯСТРЕБИНКЕ МОГУЧЕЙ  
(*HIERACIUM ROBUSTUM* FR. S. L.)

Использование насекомых в качестве биологического метода борьбы с сорняками – перспективная область сельского хозяйства.

Цель работы: оценить возможность использования насекомого-галлообразователя из отряда Нуменоптера, семейства Сунипидае – *Cynips sp.* для борьбы с сорняком ястребинка (*Hieracium robustum* Fr. s. L.).

Для достижения указанной цели было спланировано несколько экспериментов, рассчитанных на годичный цикл наблюдений за растением и природным галлообразователем.

В ходе экспериментов впервые установлено, что начало формирования галла на данном растении наступает до личиночной стадии. Наблюдение за растением показало, что зараженное растение имеет лучшие морфологические показатели по сравнению с не зараженным. В полевых условиях зимой было проведено 5 серий измерения температуры внутри галла, с  $t^0$  окружающей среды от  $-18^0$ , до  $+5^0$ . Для этого использовался электронный термометр. Термопара вставлялась внутрь галла. В результате опытов выяснилось, что какой бы ни была  $t^0$  окружающей среды,  $t^0$  внутри галла всегда была в 1,7 – 2,5 раза выше, что значительно увеличивает выживаемость личинок в условиях умеренно-континентального климата с холодной продолжительной зимой. В лабораторных условиях из галлов выводились и содержались насекомые. В процессе содержания были описаны новые данные по биологии и экологии.

В результате исследования было установлено, что растение *Hieracium robustum* Fr. s. L. и насекомое-галлообразователь *Cynips sp.* находятся в симбиотической связи, а значит использовать данных насекомых в борьбе с этим сорняком нецелесообразно.

Полученные в процессе экспериментов физические характеристики насекомых и галлов имеют не только фундаментальное значение, но могут быть полезны в таких перспективных отраслях сельского хозяйства как растениеводство и биологическая защита растений.

Научный руководитель: д.б.н., профессор В.В. Аникин.



ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФАУНЫ МУРАВЬЕВ  
(HYMENOPTERA, FORMICIDAE) ЛЕСНЫХ БИОТОПОВ  
САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Муравьи – важнейший компонент естественных экосистем, это одна из основных групп участвующая в регуляции численности насекомых, распространение растений и почвообразовании. На сегодняшний день в мировой фауне известно более 12 тыс. видов муравьев [1], а для фауны России и сопредельных государств – около 300 видов [2]. Изучение биологического разнообразия актуально в условиях все возрастающего антропогенного воздействия, приводящего к изменению ландшафта и сокращению биоразнообразия.

Цель исследования – выявление видового состава и определение экологических и зоогеографических особенностей фауны лесных биотопов Саратовской области. Данная работа обобщает и дополняет ранее полученные результаты [3, 4, 5].

Исследования проводили летом 2012–2014 гг. в пойме р. Медведицы Лысогорского района и в Национальном парке «Хвалынский». Место взятия проб – гнездо, а также отлов с растительности и территории. Для сбора материала используется ручной метод [6]. В НП «Хвалынский» для привлечения муравьев использовали кормушки с сахарным сиропом [7]. Экологические характеристики и принадлежность к фауногенетическому типу взяты из литературных источников [8, 9, 10].

На исследованной территории было обнаружено 20 видов муравьев, относящихся к трем подсемействам и восьми родам. К подсемейству Formicinae относится 11 из обнаруженных видов (55%), к Myrmicinae – 8 (40%) и 1 вид (5%) к Dolichoderinae. Наиболее разнообразны рода *Formica* и *Lasius*, к ним относятся по 5 из обнаруженных видов.

Для проведения зоогеографического анализа выявленные виды были разделены на фауногенетические типы [11]. Фауна муравьев лесных биотопов области гетерогенна и представлена 9 типами ареалов.

К голарктическому типу относятся 3 вида (15%): *Lasius umbratus* Nylander, 1846, *L. alienus* Forster, 1850 и *Myrmica rubra* L., 1758, населяющие Неарктику и Палеарктику.

Бореальный комплекс включает виды, обитающие в хвойных лесах Голарктики. К ним относятся 3 вида (15%): *Formica polyctena* Forster, 1850, *F. rufa* L., 1761 и *Leptothorax acervorum* Fabricius, 1793.

Ареалы видов Транспалеарктического комплекса охватывают, как минимум две географические зоны в Палеарктике. Эта группа доминирует в изученной фауне и представлена 6 видами (30%): *Formica pratensis* Retzius, 1783, *F. fusca* L., 1758, *Lasius niger* L., 1758, *L. flavus* Fabricius, 1782, *Myrmica scabrinodis* Nylander, 1846 и *Tetramorium caespitum* L., 1758.

Европейско-западносибирский комплекс представлен видами широко распространенными в западной части Палеарктики, Средиземноморье и части

Средней Азии. В этот комплекс входят 2 вида (10%): *Formica cinerea imitans* Ruzsky, 1902 и *Myrmica rugulosa* Nylander, 1849.

Амфипалеарктический (неморально-лесной) комплекс в изученной фауне состоит из 2 видов (10%): *Lasius fuliginosus* Latreille, 1798 и *Dolichoderus quadripunctatus* L., 1771. К этой группе относятся виды обитающие в основном в широколиственных лесах, реже хвойных.

По 1 виду (5%) относится к четырем типам. К Европейско-кавказскому комплексу – *Camponotus vagus* Scopoli, 1763, обитающий в широколиственных лесах западной части Палеарктики. К Степному – *Myrmica deplanata* Emery, 1921, населяющий степи Евразии. К Турано-степному – *Messor structor* Latreille, 1798, его ареал охватывает степную, пустынную и лесостепную зоны. К Туранскому – *Messor kasakorum* Arnoldi, 1969, обитающий в пустынной зоне Палеарктики

Эндемичных видов на исследуемой территории не обнаружено, это может свидетельствовать о формировании фауны за счет миграции с соседних территорий и единстве историко-географического происхождения Саратовской области с материком Евразия.

Установленные на изученной территории виды на основании места поселения и основного яруса, в котором добывают пищу, относятся к четырем жизненным формам. Геобионты строят гнезда и добывают пищу в почве. К этой группе относятся 2 вида (10%): *Lasius umbratus* и *L. flavus*. Герпетобионты – муравьи, которые добывают пищу на поверхности почвы, а также поднимаются на растения для сбора пади и нектара. На долю этой группы приходится 60% (12 видов). Близкая к предыдущей жизненная форма – герпетобионты, строящие надземные сооружения. К этой группе относятся три вида муравьев (15%) рода *Formica*: *F. pratensis*, *F. polycтена* и *F. rufa*. Дендробионты устраивают гнезда в ветвях живых или мертвых деревьев, пищу добывают в кроне и редко спускаются на землю. К этой группе принадлежит 3 из обнаруженных видов (15%): *Lasius fuliginosus*, *C. vagus* и *D. quadripunctatus*.

Анализ пищевой специализации муравьев Саратовской области позволил выделить три трофические группы. Преобладают в изученной мирмекофауне зоофаги-трофобионты – 65% (13 видов). На трофобионтов-зоофагов приходится 25% (5 видов) и 10% на фитофагов (карпофагов) (2 вида рода *Messor*).

По отношению муравьев к влаге преобладают мезофильные виды (50% – 10 видов), 6 видов – гемиксерофилы, т.е. умеренные ксерофилы, 3 вида – мезогемиксерофилы и 1 вид – гигромезофил. По отношению к теплу наблюдается наиболее равное распределение видов. К мезотермам и мезомакротермам относятся по 6 видов, к макротермам – 4 вида и к микромезотермам – 3 вида. Преобладающая по отношению к свету группа – фотофилы (79%), и по 10,5% приходится на умброфилов и фотофобов.

В двух исследованных лесных биотопах установлено обитание 20 видов муравьев из трех подсемейств – Formicinae, Myrmicinae и Dolichoderinae. Преобладают транспалеарктические и голарктические виды, составляющие почти половину установленной фауны. Из обнаруженных видов 75% –

герпетобионты. Доминирующая трофическая группа – зоофаги-трофобионты (65%). По отношению муравьев к влаге преобладают мезофильные виды (50%), к теплу – мезотермы (31,5%) и мезомакротермы (31,5%), к свету – фотофилы (79%).

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор В.В. Аникин.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Bolton B., Alpert G., Ward P.S., Nasrecki P.* Bolton's Catalogue of ants of the world. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 2006. CD-ROM.
2. *Купьянская А.Н.* Сем. Formicidae – Муравьи // Определитель насекомых Дальнего Востока России. Т.4. Ч.1. СПб: Наука, 1995. С.325–368.
3. *Павлова Н.С.* К мирмекофауне (Hymenoptera, Formicidae) поймы р. Медведицы (Саратовская область) // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2014. Вып. 11. С. 145–147.
4. *Павлова Н.С.* Особенности суточной активности степной ассоциации муравьев (Hymenoptera, Formicidae) в Хвалынском национальном парке (Саратовская область) // Теоретические и прикладные аспекты современной науки: сборник научных трудов по материалам VI Международной научно-практической конференции 31 декабря 2014 г.: в 6 ч. / Под общ. ред. М.Г. Петровой. Белгород: ИП Петрова М.Г., 2015. Ч.1. С. 106–108.
5. *Павлова Н.С., Аникин В.В., Рига Е.Ю.* Особенности биологии муравьев (Hymenoptera, Formicidae) в Национальном парке «Хвалынский» (Саратовская область) // Известия Саратовского ун-та. Новая сер. Сер. Химия. Биология. Экология. Саратов, 2015. Т. 15, вып. 4. С. 78–82.
6. *Гилев А.В., Зрянин В.А., Федосеева Е.Б.* Методы сбора, хранения и морфометрии муравьев // Муравьи и защита леса: Материалы XIII Всероссийского мирмекологического симпозиума (Н. Новгород, 26–30 августа 2009г.) Н. Новгород: Изд-во Нижегородского госуниверситета, 2009. С. 263–271.
7. *Резникова Ж.И.* Методы исследования поведения и межвидовых отношений муравьев в полевых условиях // Евразийский энтомол. журн. 2009. №8(3). С. 265–278.
8. *Астафьев В.М.* Биоэкологические особенности муравьев и их распространение в Самарской области: монография. Самара: ПГСГА, 2009. 96 с.
9. *Адаховский Д.А.* Мирмекокомплексы юга лесной зоны Вятско-Камского междуречья // Муравьи и защита леса: Материалы XIII Всероссийского мирмекологического симпозиума (Н. Новгород, 26–30 августа 2009г.) Н. Новгород: Изд-во Нижегородского госуниверситета, 2009. С. 113–117.

10. Савранская Ж.В. Фауна и экология муравьев (Hymenoptera, Formicidae) северо-западного Прикаспия (в пределах Калмыкии). Автореф. дис. канд.биол.наук. Ставрополь, 2007. 24с.

11. Арнольди К.В. Зональные зоогеографические и экологические особенности мирмекофауны и населения муравьев Русской равнины // Зоол. журн. 1968. Т. 67, № 8. С. 1155–1178.

**И.В. Парфирова**

## ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЖЕНСКОГО ГАМЕТОФИТА У МУТАНТНЫХ ЛИНИЙ ТАБАКА

Решение ряда теоретических и прикладных задач генетики и селекции растений невозможно без знания закономерностей развития генеративных структур и путей их целенаправленного изменения. Один из перспективных подходов к изучению генетического контроля систем размножения растений состоит в выявлении и использовании мутаций признаков, проявляющихся на разных этапах генеративного развития. В настоящее время ведется активная работа по созданию коллекций гаметофитных мутаций, затрагивающих мейоз и развитие мужского гаметофита. Однако описаны лишь единичные мутации, вызывающие специфические изменения в строении женского гаметофита [1].

На кафедре генетики СГУ методом радиационного мутагенеза у *Nicotiana tabacum* Linnaeus (1758), были получены две мутации, вызывающие образование женских гаметофитов или зародышевых мешков (ЗМ) с измененным числом ядер и клеток [1]. Цель настоящей работы заключалась в изучении фенотипического проявления мутаций у созданных линий табака М-2 и М-3. В качестве контроля использовалась гомозиготная линия табака БГ-6, характеризующаяся высокой константностью в проявлении цитологических признаков ЗМ [2]. Растения выращивались на опытном участке в Ботаническом саду СГУ. Препараты для изучения зрелых зародышевых мешков готовили методом ферментативной мацерации до клеточной суспензии [3]. Анализ препаратов проводили на микроскопе “Аxiostar-plus” при увеличении  $10 \times 40$ .

В результате цитоэмбриологического анализа было показано, что у контрольной линии БГ-6 развитие 98,2 % ЗМ осуществляется нормально и заканчивается образованием 8-ядерного, 7-клеточного, биполярного гаметофита. Зрелые ЗМ табака нормального строения содержат 3-х клеточный яйцевой аппарат, центральную клетку и 3 антиподы. У мутантных линий количество ЗМ нормального строения резко снижалось. У линии М-2 оно в среднем составило 58%, а у линии М-3 - 12%. Соответственно частота аномальных зародышевых мешков со структурными изменениями минимальна у линии БГ-6 и максимальна у М-3. Изменчивость исследованных растений по содержанию аномальных гаметофитов была невысокой у контрольной линии и мутанта М-3. Наибольшая вариабельность зарегистрирована у мутанта М-2. На это указывает и размах изменчивости (лимиты), и значения коэффициента вариации, который в этом варианте равен 28,8 %.

Для характеристики особенностей строения аномальных ЗМ использовали 2 критерия: количество ядер и наличие клеточных перегородок. Количество ядер определяется числом митотических делений при формировании ЗМ. В норме 3 последовательных митотических деления приводят к образованию 8-ми ядер. Нарушения в образовании клеточных перегородок или цитокинеза проявляются в их частичном или полном подавлении. В последнем случае образуются ценоцитные (неклеточные) ЗМ. Результаты цитологического анализа аномальных ЗМ свидетельствуют, что исследованные линии четко различаются по данным критериям и, следовательно, по качественному составу обнаруженных аномалий. У линии М-3 наблюдается сокращение числа митозов и подавление цитокинеза, что приводит к образованию малоядерных и ценоцитных ЗМ. У линии М-2 число митозов увеличивается, а заложение клеточных перегородок осуществляется нормально. В результате образуются многочисленные многоядерные и клеточные ЗМ (табл.).

Таблица

Результаты анализа аномальных зародышевых мешков  
у трех линий табака

Линия	Число анали- зиро- ванных ЗМ	Аномальные ЗМ, %	ЗМ с числом ядер, %					
			менее 8		8		более 8	
			цено- цит- ные	кле- точ- ные	цено- цит- ные	кле- точ- ные	цено- цит- ные	кле- точ- ные
БГ-6	1000	2,0	0,7	0,2	0	0,8	0	0,1
М-2	400	42,0*	2,0	0	0	0,5	0	39,5*
М-3	800	88,4*	62,3*	25,2*	0	0,1	0	0,8

Примечание: \* различия с линией БГ-6 достоверны на уровне значимости 0,001

У 8 проанализированных растений мутантной линии М-3 количество аномальных ЗМ варьировало от 83 до 93 %. Среди них преобладали 2-4-ядерные ценоцитные, количество которых от общего числа аномалий составило в среднем 55,6 %. Вторым по встречаемости классом были малоядерные, но в которых прошло клеткообразование. Такие ЗМ встречались значительно реже с частотой 25,2 %. Количество ЗМ с числом ядер равным 8 и более не превышало 1-2 %. От 40,2 до 61,5 % аномальных ЗМ содержали увеличенные ядра с дополнительными ядрышками.

Появление таких ядер указывает на нарушения при прохождении митозов или на замену митотических делений эндомитозами. Следовательно, в ЗМ мутанта М-3 возможно появления ядер разного уровня ploидности и с разным числом хромосом.

У мутантной линии М-2 было исследовано 4 растения. Количество аномальных ЗМ в среднем составило 42 %, большая часть которых представлена многоядерными клеточными ЗМ. В основном это были биполярные ЗМ с числом ядер от 9 до 16, реже – мультиполярные с беспорядочным расположением ядер в мешке. Важной особенностью таких ЗМ

было увеличение числа клеток в яйцевом аппарате, морфологически сходных с яйцеклеткой, и числа полярных ядер.

Таким образом, изученные линии являются носителями различных гаметофитных мутаций, участвующих в контроле пролиферации ядер ЗМ табака. При этом мутация у растений М-3 является негативным регулятором пролиферации клеток, а мутация у растений М-2 – позитивным. Плейотропный эффект мутаций проявляется в их влиянии на другие признаки ЗМ: полярность, дифференцировку клеток, процессы цитокинеза. Выявленные изменения представляют интерес для понимания механизмов развития зародышевых мешков и могут быть полезны при решении ряда проблем экспериментальной цитоэмбриологии, экологической эмбриологии, генетики развития репродуктивных структур и эмбриологических причин апомиксиса.

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент Л.П. Лобанова.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Тырнов В.С., Еналеева Н.Х. Гаметофитные мутации // Эмбриология цветковых растений. Терминология и концепция. Спб: Мир и Семья, 2000. Т.3. С.378-384.
2. Лобанова Л.П. Модификационная изменчивость макрогаметофита табака: автореф. дис. ... канд. биол. наук. СПб, 1992. 16 с.
3. Юдакова О.И., Гуторова О.В., Беляченко Ю.А. Методы исследования репродуктивных структур и органов растений: учеб.- метод. пособие для студентов биол. фак. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2012. 44 с.

**С.В. Петров**

### БИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА БАКТЕРИЯМИ И ГРИБАМИ

Синтез серебряных наночастиц является актуальной областью исследований, вследствие расширяющегося круга их применения в различных областях медицины, биохимии, иммунологии и технологии [1]. В настоящее время существуют различные физико-химические методы синтеза наночастиц, однако, как правило, они небезопасны для окружающей среды и человека. Таким образом, существует потребность в развитии новых методов синтеза с применением, в частности, микробных биотехнологий. Биологический («зеленый») синтез наночастиц доступен, эффективен, экономически выгоден и экологически безопасен [2]. Исследователи в настоящее время проводят активный поиск эффективных биообъектов для получения наночастиц серебра. Сведения о биотрансформации почвенными бактериями рода *Azospirillum* и базидиальными грибами *Lentinula* и *Ganoderma* соединений серебра до элементного состояния с образованием наночастиц отсутствуют. Исходя из вышесказанного, мы предприняли исследование с целью изучения способности

почвенных бактерий *Azospirillum brasilense* и ксилотрофных базидиомицетов *Lentinula edodes* и *Ganoderma lucidum* к синтезу наночастиц серебра.

В качестве объектов исследования использовали культуры грибов *L. edodes* Berkeley, 1976 штамм F-249 и *G. lucidum* Curtis, 1881 штамм 1315, представляющие большой интерес пищевой ценностью, вкусовыми качествами плодовых тел, а также наличием уникального комплекса биологически активных и лекарственных веществ с высоким терапевтическим эффектом и не оказывающих отрицательного воздействия на организм человека. А также культуру азотфиксирующей почвенной бактерии *A. brasilense* штамм Sp245 Baldani, 1983, способной образовывать ассоциации с растениями и стимулировать их рост и развитие. Микроорганизмы выращивали на минеральной среде при оптимальных условиях для данных видов. В колбы с культурами вносили  $\text{AgNO}_3$ , до конечной концентрации 1мМ, оптимальной как для роста микроорганизмов, так и для биосинтеза наночастиц серебра.

В результате проведенных исследований было установлено, что при глубинном культивировании с добавлением ионов серебра цвет культуральной жидкости, а также гиф грибов и клеток бактерий, заметно темнел начиная со вторых суток эксперимента и приобретал рыжевато-бурую окраску. Признаком появления наночастиц серебра, по литературным источникам, является желтовато-коричневое окрашивание среды культивирования и биомассы микроорганизмов [3]. В контрольных колбах изменения окраски не наблюдалось.

Для обнаружения электронно-плотных наночастиц было проведено исследование клеток микроорганизмов и культуральной жидкости методом просвечивающей электронной микроскопии на электронном микроскопе Libra 120 (“Carl Zeiss”, Германия) при 120 кэВ. Наночастицы серебра синтезировали все микроорганизмы, без заметных различий в форме и размере, как на поверхности клеток, так и в среде выращивания. Основная масса наночастиц была неправильной сферической формы, с преобладающим диаметром 5-50 нм. Причем, часто наночастицы слипались в конгломераты. Для подтверждения того, что данные наночастицы представляют собой именно восстановленное серебро они были исследованы методом рентгеновской флуоресценции с помощью энергодисперсионного спектрометра модели ED 2000 (“Oxford Instruments”, Великобритания). Для отделенных фильтрованием и отмытых электронно-плотных нанообразований были полученные спектры, в которых отмечено появление интенсивных эмиссионных линий, характерных для серебра. Данный элемент детектировались у всех видов.

Исследовательские работы последнего десятилетия говорят о способности некоторых микроорганизмов восстанавливать ионы металлов с помощью белков, ими синтезируемых. Есть предположение о возможном участии фенолоксиляющих ферментов, в синтезе наночастиц металлов [4]. Основываясь на полученных нами ранее данных о способности ксилотрофного базидиомицета *L. edodes* [5], а также бактерии *A. brasilense* [6], к продукции комплекса фенолоксидаз, и в частности Mn-пероксидаз, мы предположили

возможное участие данных ферментов в процессе биоредукции соединений серебра с образованием наночастиц.

Из культуральной жидкости *A. brasilense* Sp245 и мицелия *L. edodes* F-249 были выделены гомогенные ферменты. Чистота полученных ферментов была подтверждена электрофоретически. Удельная активность бактериальной Mn-пероксидазы составила 105 ед./мг, а молекулярная масса равнялась 42-44 кДа. Активность грибной Mn-пероксидазы составила 1700 ед./мг, молекулярная масса одной субъединицы фермента равнялась 47 кДа, а другой около 60 кДа. При инкубации 1 mM AgNO<sub>3</sub> и водного раствора гомогенных ферментов при комнатной температуре в темноте наблюдалось появление коричневого окрашивания раствора. Оказалось, что при инкубации AgNO<sub>3</sub> с водными растворами ферментов изменение окраски происходило раньше, чем при инкубации с культурами микроорганизмов (с бактериальным ферментом через 12 часов, с грибным - через 1 час). Наночастицы серебра, синтезированные в присутствии грибной и бактериальной Mn-пероксидаз были представлены неправильными сферами, размером от 10 до 40 нм. Размер восстановленных частиц серебра был также оценен методом динамического светорассеяния, полученные результаты подтвердили данные электронной микроскопии. Дзета-потенциал коллоидного серебра, синтезированного в присутствии бактериальной Mn-пероксидазы составлял -8.26 mV, грибной – в среднем -15 mV. Полученные коллоиды были устойчивы более 10 суток, агрегации или флокуляции частиц не наблюдалось, возможно стабилизация обусловлена присутствием фермента.

Таким образом, с помощью методов рентгеновской флуоресценции, просвечивающей электронной микроскопии и динамического светорассеяния установлена способность базидиомицетов *L. edodes*, *G. lucidum* и почвенной бактерии *A. brasilense* к восстановлению ионов серебра из AgNO<sub>3</sub> с последующим биосинтезом наночастиц в культуральной жидкости и на поверхности клеток. Показано участие грибных и бактериальных Mn-пероксидаз в биовосстановлении металлов с образованием наночастиц. Биосинтез наночастиц с помощью культивируемых базидиомицетов *L. edodes* и *G. lucidum* и почвенных азотфиксирующих бактерий *A. brasilense* приобретает особую актуальность в связи с их способностью синтезировать и накапливать большое количество наночастиц в клетках и культуральной жидкости, а также простотой, доступностью и экологической безопасностью данного метода.

Исследование выполнено при финансовой поддержке исследовательского гранта РФФИ № 16-34-01200 мол\_а.

Руководитель проекта – Е. А. Лощина; исполнители проекта – Е. П. Ветчинкина, М. А. Купряшина, С. В. Петров.

Научные руководители - д-р биол. наук, профессор В.Е. Никитина; канд. биол. наук, доцент Е.В. Глинская.



## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Duran N., Marcato P.D., Duran M., Yadav A., Gade A., Rai M. Mechanistic aspects in the biogenic synthesis of extracellular metal nanoparticles by peptides, bacteria, fungi, and plants // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2011. V. 90. P. 1609–1624.
2. Mohanpuria P., Rana N.K., Yadav S.K. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications // *J. Nanopart. Res.* 2008. V. 10. № 3 P. 507–517.
3. Zaki S., Kady M.F., Abd-El-Haleem D. Biosynthesis and structural characterization of silver nanoparticles from bacterial isolates // *Materials Research Bulletin.* 2011. V. 46. P. 1571–1576.
4. Sanghi R., Verma P., Puri S. Enzymatic Formation of Gold Nanoparticles Using *Phanerochaete Chrysosporium* // *Adv. Chem. Engineer. Sci.* 2011. V. 1. P. 154–162.
5. Vetchinkina E.P., Pozdnyakova N.N., Nikitina V.E. Enzymes of the xylophilic basidiomycete *Lentinus edodes* F-249 in the course of morphogenesis // *Microbiol.* 2008. V. 77. Issue 2. P. 144–150.
6. Kupryashina M.A., Selivanov N.Yu., Nikitina V.E. Isolation and purification of Mn-peroxidase from *Azospirillum brasilense* Sp245 // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2012. V. 48. Issue 1. P. 17–20.

**В.И. Разубаева, Е.М. Зинченко**

### ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ МОЗГА НА «ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫЕ ЗОНЫ» КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС

Гипоксия плода — очень опасное состояние, приводящее к тяжелым последствиям, которые находятся в прямой зависимости от времени её возникновения [1]. У новорожденных детей на фоне гипоксии возможно развитие поражений мозга, как значительное нарушение слуха, внимания, а также эпилепсия, энцефалопатия [2-4]. Наиболее опасная острая гипоксия плода с которой защитные механизмы плода не справляются. Острая гипоксия вызывает гибель «интеллектуальной зоны» коры головного мозга [5]. Однако, несмотря на серьезные изменения в деятельности мозга новорожденных детей на фоне гипоксии, остаются малоизученными процессы, лежащие в основе этих патологических явлений [6].

Целью данной работы было изучение влияния снижения оксигенации тканей мозга на «интеллектуальные зоны» мозга на основе исследования морфологических показателей пирамидальных клеток и толщины молекулярного слоя коры головного мозга, ответственных за когнитивные функции мозга.

Исследования проводились на новорожденных крысах возрастом 12 дней. Были исследованы три группы: 1) интактные, новорожденные крысы в контрольной группе (n = 25); 2) группа крыс в состоянии предшествующим

кровоизлияниям (2, 4, 6, 8 ч после стресса, n = 25 в каждой группе); 3) крысы в пост-геморрагическом состоянии (24 часов после стресса, n = 27).

Для воспроизведения мозговых кровоизлияний животные подвергались воздействию прерывистого звука силой 120 дБ, 370Г ц, звук подавался на протяжении 120 мин по схеме 10 секунд- звук, 60 секунд перерыв.

Уровень насыщения крови кислородом (SpO<sub>2</sub>) в головном мозге контролировали с помощью: 1) магнитно-резонансной томографии (MRI, Clin Scan 7T, Bruker Biospin); 2) пульсоксиметрии (длины волн 660 нм и 880 нм для обнаружения SpO<sub>2</sub> - насыщение окси-гемоглобином, которое выразили в процентах от HbO<sub>2</sub> по отношению к общему Hb в крови).

Морфологические изменения в тканях «интеллектуальной зоны» подтверждались гистологическим методом. Окраска гематоксилин и эозин, срезы толщиной 5 мкр.

Исследования кислородной сатурации тканей мозга новорожденных крыс позволили определить, что уровень SpO<sub>2</sub> снижался в период перед кровоизлиянием (2, 4, 6, 8 ч после стресса) и оставался сниженным после кровоизлияния (24 ч после стресса). Так же была замечена пониженная контрастность сосудов головного мозга по показаниям МРТ. Эти изменения могут быть вызваны накопления дезоксигемоглобина из-за длительной гипоксии.

Результаты гистологии ясно показали, что период перед кровоизлиянием (2, 4, 6, 8 ч после стресса) характеризуется постепенным снижением толщины молекулярного слоя коры и диаметра ряда пирамидальных нейронов. Так же наблюдалось развитие периваскулярного отека в течении всего времени перед кровоизлиянием. Кровоизлияние мозга (24 ч после стресса) сопровождалось более выраженным уменьшением толщины молекулярного слоя коры и диаметра пирамидальных нейронов. Эти патологические изменения в коре голевого мозга сопровождалось апоптозом пирамидальных нейронов.

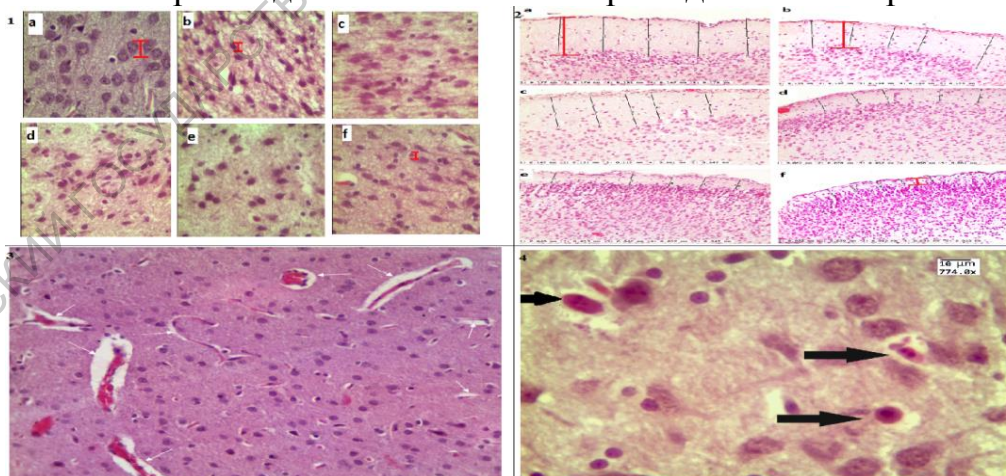


Рис. Морфологические изменения «интеллектуальной зоны» коры головного мозга. 1- Диаметр пирамидальных нейронов в контрольной группе (a) и 2 ч. (b), 4 ч. (c), 6 ч. (d), 8 ч. (e), 24 ч. (f) после стресса. 2 - Толщина молекулярного слоя коры в контрольной группе (a) и 2 ч. (b) 4 ч. (c), 6 ч (d), 8 ч. (e), 24 ч. (f) после стресса. 3- Периваскулярный отек. 4- Апоптические тела в коре головного мозга новорожденных крыс.

Гипоксия является важным фактором развития необратимых последствий в «интеллектуальных зонах» мозга, которые сопровождаются снижением числа пирамидальных клеток и толщины молекулярного слоя, отвечающих за когнитивные функции мозга.

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор О.В. Семячкина-Глушкова.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Федорова М.В. /Диагностика и лечение внутриутробной гипоксии плода/М.В. Федорова. Москва: Библиограф, 1982. 208 с.
2. Takenouchi T., Kasdorf E., Engel M. Changing pattern of perinatal brain injury in term infants in recent years.//Pediatr Neurol. 2012.Vol. 46. P.106–110.
3. A follow-up study of infants with intracranial hemorrhage at full-term. /B.S. Jhawar [et al.] // Neurol Sci.2005. Vol. 32. P. 332-339.
4. Brouwer A.J., Groenendaal F., Koopman C. Intracranial hemorrhage in full-term newborns: a hospital-based cohort study. // Neuroradiol. 2010. Vol. 52. P, 567–576.
5. Bodin P., Burnstock G. Synergistic effect of acute hypoxia on flow-induced release of ATP from cultured endothelial cells. // Experientia. 1995. Vol. 51. P. 256-259.
6. Risk factors for intracranial hemorrhage among full-term infants: a case-control study. //B.S. Jhawar [et al.]// Neurosurgery.2003. Vol. 52, P.581-590.

**Е.Ю. Пуга**

## ИЗУЧЕНИЕ ЗВУКОВЫХ СИГНАЛОВ МУРАВЬЕВ РОДА *FORMICA* (INSECTS: HYMENOPTERA) И МИРМЕКОФИЛЬНЫХ ЖЕСТКОКРЫЛЫХ РОДА *SCYDMAENUS* (INSECTS: COLEOPTERA), ОБИТАЮЩИХ СОВМЕСТНО

В настоящее время хорошо известно, что общаются внутри своего сообщества благодаря химическим и акустическим сигналам. Химический канал связи позволяет колонии не пускать враждебные организмы на территорию муравейника. В ходе эволюции другие насекомые, в частности гусеницы бабочек *Maculinea alcon* (Denis & Schiffermuller, 1775) (Lycaenidae), жуки рода *Lomechusa* (Staphylidae) научились подражать химическим сигналам муравьёв и сожительствовать с ними. Акустический канал имитировать намного сложнее, но всё же насекомым это удалось сделать. В частности одной из таких групп являются мирмекофильные жесткокрылые (сем. Staphilynidae). Целью нашего исследования было установить наличие коммуникационных сигналов акустического ряда между муравьями *Formica rufa* Linnaeus, 1761 и жуками *Scydmaenus helwigii* Herbst, 1792, ранее не изучавшихся.

Наше исследование включало два этапа работы: полевой и лабораторный (размножение колонии, переселение в формикарий, запись и воспроизведение звуков). Сбор материала производился летом 2015 года на территории природного парка «Кумысная поляна», в окрестностях города Саратова. В ходе полевых исследований, методом ручного сбора, отсобирались жуки и муравьи из 20 муравейников, разных популяций. Из каждого муравейника собирались в ходе разлёта: 1 матка, 4-5 рабочих особей, 4-5 солдата. Насекомые помещались в инкубатор и после транспортировки переселялись в формикарий. В ходе второго этапа исследований, после заселения в 8 формикариев, где были созданы искусственные условия, в каждом формикарии находилось около 100-150 особей муравьёв и 35-40 жуков. Для записи звуков муравьёв и жуков использовалась система активного шумоподавления авторской сборки, состоящая из двух микрофонов, двухканального сверхмалощумящего усилителя звуковой частоты, ноутбука с предустановленным программным обеспечением для записи и обработки звука.

По итогам активного эксперимента впервые была установлена частота звуковых сигналов (1-4 Гц), которые используются муравьями при коммуникации, передаче информации и т.д. Было установлено, что для каждого отдельного формикария со своей семьёй (отдельные касты) наблюдается свой диапазон издаваемых звуков (разброс от основной частоты составлял 100-300 Гц). В ходе воспроизведения нами стрекотаний, в каждой из колоний достигался эффект обратной связи, т. е. муравьи реагировали на звуки и выполняли определённые команды.

В отношении мирмекофилов нами было установлено, что жуки могут издавать похожие сигналы схожие с муравьиными. Жуки, издавая стрекотания усиками, заставляют муравьёв выполнять различные команды (перенести яйца, принести корм и т. д.). В свою очередь это подтверждает, что *Scydmaenus helwigii* может активно вмешиваться в коммуникацию семьи муравьёв *Formica rufa*. Жуки могут подражать всем кастам муравьёв (матке, солдатам, рабочим особям). Наше наблюдение позволило установить, что жуки используют данные сигналы для своих нужд (при заботе о потомстве, использовании пищевых ресурсов и т. п.). Таким образом можно сделать вывод о наличии сложных симбиотических взаимоотношениях между муравьями и жуками, где последние являются паразитами второго класса – синойками (по классификации Эриха Васманна, 1910 г.).

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор В.В. Аникин;  
научный консультант – канд. биол. наук. А.С. Сажнев.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Wasmann E. Nachtrage zum sozialen Parasitismus und der Sklaverei bei den Ameisen / E. Wasmann // Biol. Zentralbl, 1910. V. 30. Pp. 453–524.*

ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНА *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SP7 НА АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ГИПО-, ГИПЕРТЕРМИИ И ЗАСОЛЕНИИ

Ассоциативные азотфиксирующие бактерии рода *Azospirillum* – микроорганизмы, стимулирующие рост растений. Считается, что ростстимулирующий эффект бактерий связан со способностью к азотфиксации, продукции фитогормонов, улучшением водного и минерального статуса, продукции ряда соединений, увеличивающих мембранную активность и пролиферацию тканей корневой системы, способностью уменьшать влияние стрессоров на растение и осуществлять контроль многочисленных фитопатогенов. Также – способность индуцировать у растений защитные реакции, направленные на повышение устойчивости. Несмотря на активно ведущиеся в этой области исследования, на данный момент вопрос о приоритетности какого-либо из перечисленных факторов, объясняющих благоприятное влияние инокуляции азотфиксирующими бактериями на рост и продуктивность растения, остается открытым [1].

Образование азотфиксирующих систем, подобно как и любых других биологических межклеточных взаимодействий, согласно современным представлениям, включает функционирование молекул белковой природы – лектинов. Долгое время считалось, что в системе углеводов-белкового взаимодействия при формировании азотфиксирующих ассоциаций и симбиозов роль узнающих молекул выполняют лектины растений. Однако появление новых знаний относительно лектинов азотфиксирующих бактерий заставило внести коррективы в систему взглядов по лектин-углеводным взаимодействиям, реализуемым при возникновении азотфиксирующих ассоциаций с учетом роли бактериальных лектинов [2].

Лектины азоспирилл являются полифункциональными молекулами. Помимо адгезивной функции, они способны влиять на метаболизм растительной клетки – стимулировать прорастание семян, проявлять по отношению к растительной клетке митогенную и ферментмодифицирующую активности, изменять содержание стрессовых метаболитов в растительной клетке, что свидетельствует о способности лектинов выступать в качестве индукторов адаптационных процессов корней проростков пшеницы.

Воздействие на растения неблагоприятных температур и засоления являются одними из наиболее распространенных абиотических стрессоров. Гипертермия отрицательно влияет на метаболизм растений. При нагревании нарушается четвертичная структура сложных белковых комплексов. Низкая температура также негативно влияет на метаболизм, существенно снижает продуктивность. В действии засоления на растения выделяют два фактора: токсический компонент, связанный с накоплением ионов (прежде всего, ионов натрия) в цитоплазме и дефицит воды (осмотический компонент), обусловленный присутствием избытка ионов в почве.

Пероксидазная система служит уникальным индикатором стрессового состояния растений, она может дать достаточную информацию об их физиологическом состоянии и быть критерием их устойчивости к различным факторам среды. Среди физиолого-биохимических факторов защиты растений пероксидазу рассматривают как одну из важнейших каталитических систем, активно участвующих в авторегуляции метаболизма растений при стрессовых воздействиях. Пероксидаза – один из наиболее распространенных ферментов растений, который составляет 15% всех внутриклеточных белков. Будучи по своей природе полифункциональным, этот белок участвует во многих процессах жизнедеятельности растений, в том числе одним из первых откликается на стрессовые воздействия [3]. В механизме адаптации растений к солевому стрессу важная роль принадлежит ферменту пероксидазе, активность которого в указанных условиях направлена на ликвидацию перекисных соединений, образующихся в растительных клетках в результате нарушений метаболизма. У большинства культурных растений отмечено повышение активности пероксидазы в ответ на действие засоления средней и слабой степени и ее снижение при экстремальном воздействии.

Цель работы: изучение действия кратковременной гипо- и гипертермии, а также засоления на способность оказывать регулирующее воздействие на активность пероксидазы в корнях проростков пшеницы при различных условиях среды.

В работе использован лектин штамма бактерий *Azospirillum brasilense* Sp7 (Tarrand, 1978), полученный из Института микробиологии имени С.Н. Виноградского РАН (г. Москва).

Выращивание культур, выделение и очистку лектинов проводили, как описано ранее [2]. Семена пшеницы *Triticum aestivum* L. (1753) сорта «Саратовская 29» (получены из ФГБНУ НИИ сельского хозяйства Юго-Востока, Саратов, Россия) были поверхностно стерилизованы в 70% (v/v) этаноле 1 мин, отмыты стерильной водой. Для получения корней проростков семена были выращены в асептических условиях в чашках Петри на стерильной дистиллированной воде. Для изучения влияния лектина на активность пероксидазы корней 3-дневных проростков пшеницы при гипо-, гипертермии и засолении корни в течение часа подвергали действию температуры + 42°C и + 5°C, а также 1% NaCl. Впоследствии корни гомогенизировали в 0.15 М фосфатном буфере (pH 5.6). Гомогенат центрифугировали при 10000g, надосадочную жидкость использовали для определения активности пероксидазы. Активность пероксидазы определяли по известной методике [4].

Для проведения экспериментов по изучению влияния лектина *A. brasilense* Sp7 на активность пероксидазы корней проростков пшеницы были взяты концентрации лектинов от 5 до 40 мкг/мл. Время инкубирования лектинов с корнями проростков составляло 15-60 мин.

Результаты проведенных исследований показали, что лектин после 1ч воздействия на корни проростков пшеницы способен вызывать индукцию активности пероксидазы.

Лектины оказывают активирующее действие на активность пероксидазы в корнях проростков во всех вариантах. Для всех изучаемых концентраций лектинов было отмечено увеличение активности фермента с корнями проростков, причём наибольший эффект при концентрациях 20 и 40 мкг/мл.

При воздействии низких температур (гипотермии) увеличение активности фермента наблюдалось при 30 мин. инкубации, при концентрациях лектина 20 и 40 мкг/мл.

При воздействии повышенных температур (гипертермии) увеличение активности фермента наблюдалось при 30 мин. инкубации, при концентрациях лектина 20 и 40 мкг/мл.

При добавлении 1% NaCl наблюдается увеличение активности фермента при 60 мин. инкубации, при концентрациях лектина 10, 20, 40 мкг/мл. При этом максимальное увеличение активности достигается при 40 мкг/мл.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о том, что обработка корней проростков пшеницы лектином *A. brasilense* Sp7 приводила к значительному повышению активности пероксидазы. Как показывают данные других исследователей, изменение активности в тканях является неспецифической ответной реакцией растений на действие стрессовых факторов биотического и абиотического характера. Из этого следует, что искусственное изменение баланса активности пероксидаз в растительных тканях является одним из механизмов повышения их устойчивости.

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент Е.В. Глинская;  
научный консультант – канд. биол. наук С.А. Аленькина.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Никитина В.Е., Аленькина С.А., Пономарева Е.Г., Савенкова Н.Н. Изучение роли лектинов клеточной поверхности азоспирилл во взаимодействии с корнями пшеницы. Микробиология. 1996. 65 (2): 165-170.

2. Никитина В.Е., Пономарева Е.Г., Аленькина С.А. Лектины клеточной поверхности азоспирилл и их роль в ассоциативных взаимоотношениях с растениями. В кн.: Моле-кулярные основы взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями / Под ред. В.В. Игнатова. М.: Наука, 2005: 70-97.

3. Савич И. М. Пероксидазы - стрессовые белки растений // Усп. совр. биол. -1989. -Т. 107. вып. 3.-С. 406-417.

4. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова Г.А., Иконникова М.И. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А.И. Ермакова. Л.: Агропромиздат, Ленингр. отд., 1987. 430 с.

## ЭКОЛОГО-ФАУНИСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РУКОКРЫЛЫХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Рукокрылые - одна из интересных и во многих аспектах слабо изученная группа млекопитающих. Всестороннее изучение рукокрылых диктуется рядом соображений. Во-первых - недостаточность сведений о распространении этой группы животных на обширных пространствах затрудняет анализ териофауны России в целом. В связи с этим определенное значение имеют региональные эколого-фаунистические исследования, которые могут восполнить этот пробел. Во-вторых - не до конца изучен образ жизни летучих мышей в разных частях ареалов многих видов, что не дает полного представления о роли рукокрылых в экосистемах, где они, по-видимому, занимают не последнее место в процессе поддержания их устойчивости. Исследования рукокрылых важны и в плане их охраны. Знания видового состава и относительной численности этих животных могут создать основу для защиты летучих мышей.

Тем не менее, степень изученности летучих мышей столь обширного региона остается недостаточной. Было издано множество статей о распространении, миграциях, популяционном размещении видов рукокрылых, но целенаправленного изучения хироптерофауны и эколого-фаунистического анализа в области до настоящего времени практически не проводилось, остаются открытыми многие вопросы биологии и экологии летучих мышей Саратовской области.

Использование ультразвуковых детекторов, позволяющих регистрировать зверьков в местах наибольшей активности дает возможность эффективно решать вопросы видового состава, численности, а также экологии этих животных.

Наиболее результативным представляется применение нового подхода с традиционными методами исследований.

Материал для настоящей работы был собран в ходе полевых исследований с применением маршрутного эколого-акустического обследования территории. Исследования проводились на территориях Саратовского, Аткарского, Хвалынского, Духовницкого, Дергачевского и Александрово-Гайского районов Саратовской области с мая по август 2014-2015 г.

Для сбора акустических данных было заложено 20 пеших трансект, без ограничения длины. Маршруты при поисках летучих мышей проходили по лесным дорогам, тропам, опушкам леса, а также вдоль береговой полосы водоемов и в населенных пунктах возле жилых и общественных зданий. Исследования целенаправленно осуществлялись в различных ландшафтных зонах. Учеты рукокрылых начинались с наступления сумерек и заканчивались с рассветом. Для фиксации наличия летучих мышей и регистрации ультразвуковых сигналов, а также в качестве средств для определения вида рукокрылых в полете использовался гетеродинный ультразвуковой детектор модели Magenta Bat5 Bat Detector. Фиксировались частоты, используемые



видами летучих мышей обитающих на территории Саратовской области для эхолокации в диапазоне 15-55 кГц.

За период исследования ультразвуковые сигналы были получены от 6 видов рукокрылых: нетопырь лесной (*Pipistrellus nathusii* Keyserling, Blasius, 1839), нетопырь малый (*Pipistrellus pygmaeus* Leach, 1825), бурый ушан (*Plecotus auritus* Linnaeus, 1758), кожан поздний (*Eptesicus serotinus* Schreber, 1774), ночница Брандта (*Myotis brandtii* Eversmann, 1845), рыжая вечерница (*Nyctalus noctula* Schreber, 1774). Встречаемость рукокрылых рассчитывали с использованием общепринятой методики. Эта характеристика выражается в процентах и соответствует отношению числа мест находок каждого вида к общему числу мест находок летучих мышей всех видов [1].

Наиболее часто встречаются *P. nathusii* (встречаемость 43,20%) и *E. serotinus* (28,80%). После идут *P. auritus* (14,40%), *M. brandtii* (7,60%) и *P. pygmaeus* (4,20%), у водоемов редко встречается *N. noctula* (1,6%).

Для оценки избирательности видов при выборе разных биотопов использовали степень относительной биотопической приуроченности [2], которая учитывает долю вида в структуре сообществ разных мест обитания и не требует равного объема исследований в разных типах биотопов. На исследуемой территории было выделено 6 типов биотопов: дубравы липово-кленовые (Дуб), сосняки (С), степной биотоп (Ст), биотоп с интенсивной антропогенной нагрузкой (Ант).

На основе исследований можно сделать выводы, что большинство видов используют несколько типов биотопов, степень биотопической приуроченности к которым различна.

Таблица

Степень приуроченности видов рукокрылых к различным типам биотопов

Виды	Биотопы			
	(Дуб)	(С)	(Ст)	(Ант)
Нетопырь лесной	0,53	0,13	0	-0,41
Кожан поздний	-0,65	0,19	-0,41	0,32
Бурый ушан	-0,41	0	0,70	0,28
Нетопырь малый	1	0	0	0
Ночница Брандта	-0,55	0	0,59	0,52

Дубравы, липо-кленовники предпочитают нетопырь лесной, нетопырь малый. К биотопам с интенсивной антропогенной нагрузкой приурочены кожан поздний и более всего ночница Брандта. Бурый ушан отмечен в степи вблизи водоемов. В сосняках в меньшей степени обитают кожан поздний и нетопырь лесной.

При выделении экологических групп рукокрылых области была использована классификация Сергея Вадимовича Крускопа (1996; 1998), основанная на пространственной организации мест охоты [3].

Наиболее широко фауна рукокрылых представлена группой «воздушные охотники пересеченных пространств». На эту группу приходится 83,90% от общего числа зарегистрированных звуковых сигналов. В ее составе наиболее широко представлены *Pipistrellus*- и *Eptesicus*-типы. По числу зарегистрированных особей в области реже отмечается *Plecotus*-тип группы «охотники на субстрате» (14,40%). Меньше всех представлены «охотники открытых пространств». Их доля в фауне области не значительна (1,70%).

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент Е.Ю. Мосолова.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Стрелков П. П., Ильин В. Ю. Рукокрылые (*Chiroptera*, *Vespertilionidae*) юга Среднего и Нижнего Поволжья // Труды Зоологического института АН СССР. 1990. Т. 225. С. 42—167
2. Песенко Ю.А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях. М.: Наука, 1982. 287 с.
3. Крускоп С. В. Эколого-морфологическое разнообразие гладконосых рукокрылых (*Vespertilionidae*, *Chiroptera*): авто-реф. Дис...канд. Биол. наук. – М., 1998. – 24 с

**С.Ю. Серебрякова**

## ОЦЕНКА ЧИСЛЕННОСТИ И ЭКОЛОГИЯ МЕЛКИХ СОКОЛОВ ЮГО-ВОСТОЧНОГО ЗАВОЛЖЬЯ (В ПРЕДЕЛАХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ)

Мелкие сокола, как и все хищные птицы, замыкают пищевые цепи поэтому особенно уязвимы к антропогенным изменениям окружающей природной среды. Уязвимость усиливается в связи с тем, что практически все они являются евразийско-африканскими трансконтинентальными мигрантами и подвергаются воздействию разнообразных факторов в период миграций и на зимовках. В связи с этим необходим постоянный мониторинг численности этих видов и исследование деталей биологии и экологии в меняющихся условиях среды обитания. Это позволит выявить адаптации хищников к измененной семиаридной среде и разработать стратегии охраны уязвимых видов. Для более детального исследования выбраны два модельных вида мелких соколов – обыкновенная пустельга и кобчик. Обыкновенная пустельга обычный широко распространенный вид почти по всему ареалу, в то время как кобчик – уязвимый, сокращающийся в пределах ареала численности вид. В настоящее время этот вид включен в список редких видов птиц Европы, во многих странах численность его крайне низка.

Гнездовой ареал кобчика (*Falco vespertinus* Linnaeus, 1766) охватывает территорию от центральной и южной Европы до Предкавказья, Алтая, оз. Байкал, Китайской Джунгарии. Южная граница ареала проходит через Сербию, Болгарию, Украину, юг России и Северный Казахстан. Северная граница

распространения доходит до 61-62 ° с.ш. [1]. Общая численность вида согласно последним данным продолжает снижаться [2]. В сопредельных регионах, севернее Саратовской области всюду редок. Внесен в Красные книги Пензенской, Тамбовской, Ульяновской областей [3]. В России, Украине и Казахстане численность вида остается пока относительно высокой благодаря его гнездованию в искусственных полезащитных лесонасаждениях [4].

На современном этапе кобчик стал очень редким видом в правобережных районах Саратовской области. Наиболее стабильные поселения хищника известны в заволжской части региона. Плотность населения и общая численность вида в первой половине прошлого века оставались высокими на протяжении многих десятилетий [5].

Обыкновенная пустельга (*Falco tinnunculus* Linnaeus, 1758) широко распространенный вид Европы, Северной Африки и Азии [1]. В Саратовской области регистрируется по всей территории в лесополосах, по опушкам лесных массивов, в урбанизированном ландшафте [5]. Особенно многочисленна в заволжских районах изучаемого региона.

Сбор материала был приурочен к гнездовому периоду мелких соколов и осуществлялся в период с мая по июль 2014-2015 гг. Учеты проводились на автомобильных и пешеходных маршрутах, на территории Краснокутского, Питерского, Александрово-Гайского, Новоузенского, Ершовского и Дергачёвского районов. Полученные количественные характеристики пересчитывались в показатели видового обилия: число пар (или особей) на единицу площади. В процессе наблюдений наносили на карту все места гнездования кобчика. Полученные данные закартированы на основе равноугольной картографической проекции Меркатора (с квадратами 10×10 км), использованной при составлении Атласа гнездящихся птиц Европы. При картографировании колоний кобчика учитывали площадь, количество деревьев с гнездами, относительную численность гнезд и плотность вида.

На пешеходных маршрутах при обнаружении гнезд изучаемых видов определяли высоту расположения гнезда над землей (м), длину окружности ствола (см), высоту и породу дерева (м), на котором расположено гнездо и размеры самих гнезд. Всего было обследовано 54 гнезда кобчика и 9 гнезд пустельги.

На основе проведенных учетов получены данные по относительной численности и плотности населения соколов. Обычным видом юго-восточного Заволжья является обыкновенная пустельга. Плотность населения вида по данным учетов в среднем составляет 8.4 особи/100 км<sup>2</sup> гнездопригодных местообитаний.

Численность и плотность кобчика на изучаемой территории относительно высока. Данный вид на изучаемой территории гнездится колониально и отдельными парами, его обилие, по данным проведенных учетов составляет 6.6 особей/100 км<sup>2</sup>.

Выявлено, что в местах гнездования кобчик и обыкновенная пустельга предпочитают лесозащитные полосы как вдоль дорог так и разделительные лесополосы вдоль сельскохозяйственных земель. Обыкновенная пустельга

часто селится в гнёздах сорок (*Pica pica*), ворон (*Corvus cornix*), грачей (*Corvus frugilegus*) [6]. В юго-восточном Заволжье Саратовской области кобчик и пустельга в большинстве случаев предпочитают сорочьи гнёзда. Гнездование пустельги зарегистрировано на отдельно стоящих деревьях в открытой местности (степи). Основные древесные породы – вяз (*Ulmus sp.*) и лох узколистный (*Elaeagnus angustifolia*).

В лесополосах гнёзда кобчика и пустельги могут размещаться как во внутренних так и во внешних рядах деревьев лесополос. Охотное размножение птиц во внутренних рядах объясняется, скорее всего, значительной укрытостью гнёзд.

Окружность ствола деревьев, на которых располагались гнёзда кобчиков в среднем составляла 57.2 см. При различном размещении гнёзд на дереве большую длину окружности ствола и высоту имели деревья, где гнёзда имели приствольное расположение.

Деревья с гнёздами, расположенными близко от дороги, имели наибольшую длину и высоту. Наибольшую длину окружности ствола и высоту имели деревья, где гнёзда располагались в интервале 4.0–5.0 м. Высота расположения гнёзд варьировала от 2.0 до 5.0 м, составляя в среднем 3.5 м. Так большинство гнёзд находилось в интервале 3.0–4.0 м. Параметры расположения гнёзд у обыкновенной пустельги были сходны.

В пределах репродуктивного периода можно условно выделить две волны размножения. В результате проведенных исследований выявлено, что период гнездования кобчика растянут. Кладки обнаружены как во второй декаде мая, так и в начале июня.

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент Е.Ю. Мосолова.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Степанян Л. С. Конспект орнитологической фауны России и сопредельных территорий (в границах СССР как исторической области) / Л.С. Степанян. Москва: Академкнига, 2003. 808 с.
2. BirdLife International European Red List of Birds. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities. 2015. 69 p.
3. Соколов А.С., Лада Г.А. Кобчик *Falco vespertinus* Linnaeus, 1766 / Красная книга Тамбовской области. Тамбов: ООО «Издательство Юлис». 2012. С. 257
4. Palatitz P. European species action plan for the Red-footed Falcon *Falco vespertinus* / P. Palatitz, P. Fehérvári, Sz. Solt, B. Barov. Szarvas: BirdLife Int., 2009. 49 p.
5. Птицы севера Нижнего Поволжья. Книга II. Состав орнитофауны / Е. В. Завьялов [и др.]. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2005. 324 с.
6. Божко С.И. О гнездовании и питании пустельги, ушастой совы и обыкновенной неясыти в пригородных парках Ленинграда / С.И. Божко *Aquila* 73/74: 121-132.

## ВЛИЯНИЕ СВЕТА НА РАННИЕ ЭТАПЫ МОРФОГЕНЕЗА ПРОРОСТКА ПШЕНИЦЫ

Известно, что свет разного спектрального состава влияет на морфологические и физиологические характеристики растений [1 - 3]. Выявление механизмов влияния света в регуляции морфогенетических процессов относится к одному из актуальных вопросов развития растительных организмов. Сведения о роли света в изменении вегетативных органов, большей степени побеговой части изучалось многими учеными. Ч.Дарвин и его опыты с проростками канареечника, в которых выяснялось, влияет ли на организм растения освещение его небольшой части, и если да, то как это влияние передается его другим частям. В настоящее время активно ведутся работы по изучению влияния света на гормональный баланс растений [4,5]. Тем не менее, исследования морфологических изменений корневой системы, а так же всего растительного организма, как целостного объекта на световой фактор на сегодняшний день остается в тени исследований российских физиологов растений.

Вследствие этого целью нашего исследования являлось изучение морфологических и физиологических особенностей влияния света на морфогенез проростков пшеницы.

Объектом данного исследования была выбрана яровая форма мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* Linnaeus, 1753) сорта Саратовская 36.

Первой задачей по определению действия света на проростки пшеницы было выявить морфологические различия побеговой и корневой систем растения на наличие и отсутствие света. Для этого зерновки пшеницы помещали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, заливали дистиллированной водой и помещали одни растения в климатическую камеру с фотопериодом 16 часов день / 8 часов ночь, при 18°C на шесть суток, другую группу растений помещали в термостат при той же температуре, но в отсутствие света. У исследуемых растений в дальнейшем изучалась длина зародышевых корней, побега, масса надземной и подземной части проростка, а так же длина зоны роста корня.

Из полученных данных следует, что растения, прорастающие в темноте, имели большую длину различных типов зародышевых корней (главный корень – 104,68мм ±2 мм, нижний – 91,05 мм ±1,5 мм и верхний – 67,47мм ±3,2 мм ярус корней), в сравнении со световыми вариантами (главный корень – 75,55мм ±3,1 мм, нижний – 68,83 мм ±3,4 мм и верхний – 47,95мм ±2,6 мм ярус корней). Соответственно, длина суммы всех зародышевых корней была большей в темновом варианте опыта и составляла 263,2 мм ±3,7 мм, по отношению к световым вариантам, у которых данная величина равнялась 192,33 мм ±5,1 мм.

Сырая масса корневой системы в у растений произрастающих в темноте составляла 2181 г ±11,8 г, тогда как у растений произрастающих на свету она равнялась 1722 г ±13,2 г. По данным сырой массы побега у исследуемых

вариантов опытов не найдено статистических различий и составляла у световых вариантов  $1456 \text{ г} \pm 11 \text{ г}$ , у темновых  $1439 \text{ г} \pm 9,8 \text{ г}$  соответственно.

Из исследования зоны роста главного корня мы можем говорить о статистических различиях, между растениями растущих при наличии и отсутствии света. Так зона роста темновых вариантов была больше и составляла  $4336 \text{ мкм}$ , у световых  $2581 \text{ мкм}$ .

Таким образом, были показаны различия по длине различных типов зародышевых корней, суммарной длине корней, по массе подземной части растения и длине зоны роста главного корня.

Следующей задачей было установить изменения в содержании пигментов фотосинтеза в первом листе проростков пшеницы в разных условиях прорастания – на свету и в темноте.

Исследуемые растения прорастали по методике описанной выше на субстрате вермикулит. Определение оптических характеристик тканей производились на универсальном сканирующем спектрофотометре с расщепленным оптическим лучом фирмы LEKI модель SS2109UV.

Полученные данные свидетельствуют о различии в пигментном составе фотосинтеза световых и темновых вариантов растений. Так содержание хлорофиллов *a* у световых вариантов, которое составляло  $0,617 \pm 0,040 \text{ мг/г}$  сырой массы, в несколько раз превышало содержание того же пигмента у растений растущих в темноте для которых данное значение равнялось  $0,06 \pm 0,007 \text{ мг/г}$  сырой массы. Различия в других пигментах фотосинтеза, а именно хлорофиллов *b* и каратиноидов так же превалировало у световых вариантов над темновыми и равнялись у световых (хлорофилл *b* -  $0,457 \pm 0,020 \text{ мг/г}$  сырой массы, каратиноиды -  $0,143 \pm 0,010 \text{ мг/г}$  сырой массы), у темновых (хлорофилл *b* -  $0,087 \pm 0,007 \text{ мг/г}$  сырой массы, каратиноиды -  $0,023 \pm 0,001 \text{ мг/г}$  сырой массы).

Таким образом, показаны различия в пигментном составе фотосинтеза у проростков, которые росли на свету и у проростков, который росли в темноте.

Следующей задачей было определение ацидофицирующей активности зародышевой корневой системы на уровне целого растения и изолированных корней. Данная часть опыта проходила по методике Л. Н. Воробьева (год).

Полученные данные свидетельствуют о различии действия протонных помп у проростков по вариантам опыта и представлены на рисунке.

На рисунке показаны различия в ацидофицирующей активности световых и темновых проростков, а так же изолированных корней. Из полученных данных следует, что корневая система световых и темновых вариантов имеют одну норму реакции, тогда как изолированные корни, т.е. без побеговой части не закисляют исследуемый раствор, а наоборот его защелачивают.

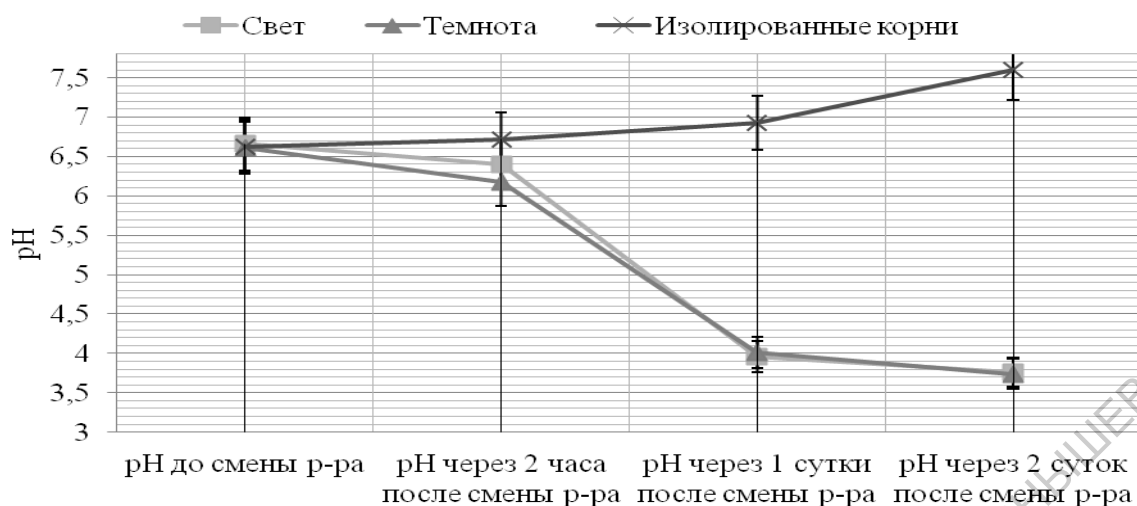


Рис. Ацидофицирующая активность корневой системы целого растения и изолированных корней проростков пшеницы сорта *Саратовская 36*

Проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы.

1. Влияние света на морфологические характеристики проросткам заключающиеся в изменении скорости роста как отдельных зародышевых корней, так и целых элементов метамера.

2. Световой фактор увеличивает содержание пигментов фотосинтетического аппарата, на которые также оказывает влияние степень развития корневой системы.

3. Ацидофицирующая активность зародышевой корневой системы проростка пшеницы не зависит от светового фактора, а определяется внутренним физиологическим состоянием проростка.

Научный руководитель – канд. биол. наук М.Ю. Касаткин; научный консультант – д-р биол. наук, профессор С.А. Степанов.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Чайлахян М.Х. Регуляция цветения высших растений М.: Наука, 1988. – 560 с.

2. Кулаева О.Н. Как свет регулирует жизнь растений // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – Т. 7. – №. 4. – С. 6-12.

3. Карначук Р.А., Гвоздева Е. С. Влияние света на баланс фитогормонов и морфогенез в культуре ткани зародышей пшеницы // Физиология растений. – 1998. – Т. 45. – №. 2. – С. 289-295.

4. Ефремова Е.А. Влияние селективного света на морфогенез и гормональный баланс кукурузы, инфицированной мозаичным вирусом карликовости : дис. – Томск : Том. гос. ун-т, 2003.

5. Немойкина А.Л. Влияние света и гормонов на морфогенез юкки слоновой в культуре in vitro : дис. – Томск : Том. гос. ун-т, 2003.

ВЫЯВЛЕНИЕ КОМПЛЕКСА ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ,  
ПОРАЖАЮЩИХ ПОБЕГИ ЯБЛОНЬ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ,  
И РАЗРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕР БОРЬБЫ С НИМИ

Одной из основных возделываемых плодовых культур на территории Саратовской области являются яблони. В последние годы и профессиональные агрономы, и садоводы-любители отмечают появление в садах деревьев с растрескавшейся и почерневшей корой. Согласно литературным данным, это заболевание – черный рак яблонь – вызывает гриб *Botryosphaeria obtusa* (Schwein.) [1, 2]. Однако микробиологические исследования на территории области ранее не проводились.

В связи с этим, целью наших исследований стало выявление грибной микрофлоры, характерной для таких побегов в Саратовской области, и поиск бактерий-антагонистов фитопатогенных грибов.

Исследования проводились в мае-июле 2015 г. Материалом послужили одно- и двулетние побеги яблонь сортов Беркутовское, Уэлси и Голден Делишес.

Пробы отбирали в Саратовском, Энгельском, Пугачевском, Аткарском, Базарно-Карабулакском, Дергачевском и Перелюбском районах Саратовской области. Всего было исследовано 200 побегов яблонь.

Для выявления фитопатогенных грибов осуществляли посевы пораженных побегов методом отпечатков на среду PDA.

Видовую принадлежность доминирующих штаммов грибов подтверждали методом ПЦР в институте фармацевтической биологии и биотехнологии (г. Дюссельдорф, Германия) и во Всероссийском институте защиты растений (г. Санкт-Петербург).

В качестве антагонистов фитопатогенных грибов использовали штаммы бактерий *Brevibacterium halotolerans*, *Bacillus pumilis*, *B. amyloliquefaciens*, *Bacillus methylotrophicus*, выделенные ранее с поверхности побегов яблонь.

Всего с поверхности побегов яблонь было выделено 54 штамма грибов 13 видов, из которых 9 относятся к фитопатогенам (*Alternaria alternata*, *Aspergillus tubiengensis*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium incarnatum-equiseti*, *Trichoderma sp.*, *Ulocladium sp.*), а 4 – к сапрфитам (*Rhizopus sp.*, *Saccharomices sp.*, *Mucor sp.*, *Penicillium sp.*). Ни в одной из исследуемых проб не выявлен возбудитель черного рака *Botryosphaeria obtusa*. Наиболее часто встречались грибы *Alternaria alternate* (индекс встречаемости 100%), *Fusarium incarnatum-equiseti* (индекс встречаемости 85%). Остальные таксоны грибов изолировались реже. Встречаемость сапрофитных видов сильно варьировала в разных районах.

При изучении антагонистической активности исследованных штаммов бактерий выяснилось, что они подавляют рост многих видов фитопатогенных грибов (табл.).



## Антагонистическая активность бактерий по отношению к выделенным штаммам фитопатогенных грибов

Микроорганизмы		Штаммы бактерий			
		<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (SA77)	<i>Brevibacterium halotolerans</i> (SA87)	<i>Bacillus methyloprophicus</i> (SA94)	<i>Bacillus pumilus</i> (SA171)
Штаммы грибов	<i>Alternaria alternata</i>	+	-	+	+
	<i>Aspergillus fumigates</i>	+	+	-	+
	<i>Aspergillus flavus</i>	+	+	+	+
	<i>Aspergillus niger</i>	+	+	+	+
	<i>Aspergillus tubiengensis</i>	+	+	+	+
	<i>Cladosporium sp.</i>	-	-	-	-
	<i>Fusarium incarnatum-equiseti</i>	-	+	-	-
	<i>Trichoderma sp.</i>	+	+	+	+
	<i>Ulocladium sp.</i>	-	-	-	-

В перспективе данные штаммы могут быть использованы в качестве основы для создания противогрибкового биопрепарата. В связи с этим представляло интерес выявление у них факторов патогенности и фитопатогенности. Лецитиназной и плазмокоагулазной активностью данные штаммы не обладали, гемолитической активностью обладали штаммы *B. methyloprophicus* и *B. pumilus*. Способностью к мацерации обладали штаммы *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens* и *Br. halotolerans*; штамм *B. methyloprophicus* не обладал такой активностью. Целлюлолитические ферменты у исследуемых штаммов не выявлены. При нанесении на листовые пластинки яблонь сорта Уэлси взвесей этих бактерий через неделю в месте надреза жилки регистрировалась небольшая зона некроза, не отличающаяся от контроля. Таким образом, ни один из штаммов бактерий-антагонистов не проявил фитопатогенных свойств по отношению к зараженному растению.

При разработке биопрепарата для борьбы с данным комплексом фитопатогенных грибов целесообразно сочетать один из штаммов *Bacillus*, которые подавляют рост *Alternaria alternata*, с *Brevibacterium halotolerans*, подавляющим рост *Fusarium incarnatum-equiseti*.

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент А.М. Петерсон.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Фитопатология. Болезни древесных и кустарниковых пород / И. И. Минкевич, Т. Б. Дорофеева, В. Ф. Ковязин / Под общ. ред. И. И. Минкевича. СПб.: «Лань», 2011. 160 с.

2. Borovinova M. Susceptibility of apple cultivars to *Botryosphaeria obtusa* / M. Borovinova Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj. 2006. Vol. XXXIV. P. 100-105.

**О.С. Трущелева, Э.Х.О. Джалилов**

## ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПЫЛЬЦЫ У ТЕТРАПЛОИДНЫХ ФОРМ КУКУРУЗЫ

Пыльцевой анализ это метод исследования, позволяющий определять репродуктивный потенциал растений по характерным морфологическим особенностям пыльцевых зёрен: клеточному строению, размеру, рисунку экзины, их фертильности и жизнеспособности. Все эти характеристики очень важны при проведении селекционных работ с целью получения продуктивного потомства. Пыльцевой анализ является обязательным при оценке фертильности полиплоидных растений, в том числе кукурузы, которая является одной из наиболее распространенных в мире зерновых культур. Важную роль в этом сыграло ее постоянное генетико-селекционное улучшение, и одним из путей получения нового селекционного материала является экспериментальное создание тетраплоидной кукурузы [1, 2]. Разноплановые исследования тетраплоидной кукурузы, в том числе и работы по выявлению изменений в развитии генеративных структур, на протяжении ряда лет проводятся на кафедре генетики СГУ [3, 4, 5]. В данной работе представлены результаты исследования пыльцы у двух тетраплоидных форм и одной диплоидной линии кукурузы краснодарской селекции. В задачи исследования входило: определение содержания дегенерирующей пыльцы, определение степени изменчивости размеров выполненной пыльцы и изучение особенностей строения пыльцевых зерен.

Материалом исследования послужили зрелые пыльцевые зерна диплоидной линии Кр-440 и двух тетраплоидных форм Кр-4 и КрП-1, полученные из Краснодарского НИИ сельского хозяйства. Всего было проанализировано 11 растений и 8700 пыльцевых зерен. Анализ пыльцы проводили на временных препаратах, методика приготовления которых включала окраску ацетокармином и осветление в хлоралгидрате или уксусной кислоте. Анализировалось строение пыльцы на микроскопе «Аxiostar-plus» при увеличении 10×40. Измерение диаметра ПЗ осуществлялось на микроскопе Аxioskop с помощью программного обеспечения «Аxiovision».

При первичной оценке дефектности пыльцы учитывались дегенерирующие пыльцевые зерна и пыльцевые зерна четко отклоняющиеся по размеру от средних значений, то есть мелкие или крупные. У тетраплоидных растений степень дефектности пыльцы по этим показателям была значительно выше, чем у диплоидных и составила в среднем 35 и 44 %.

Увеличение доли мелкой и крупной пыльцы за счет снижения количества пыльцы среднего размера может указывать на изменение ploидности пыльцевых зерен [2]. Чтобы получить более точную информацию о варьировании размера пыльцы в изучаемых вариантах, проводилось измерение диаметра выполненной не дегенерирующей пыльцы. У диплоидной линии Кр-440 доминировала пыльца с диаметром 93 мкм, а у тетраплоидных форм с

диметром 104-105 мкм. Для оценки изменчивости растений каждого варианта по размеру пыльцы был рассчитан коэффициент вариации. Максимальным он был в тетраплоидном варианте Кр-4 и составил 12,6 %. Это позволяет говорить о незначительной вариабельности растений по диаметру пыльцы во всех трех вариантах. Однако диплоидные и тетраплоидные растения четко различались размахом изменчивости размера пыльцевых зерен. Минимальным он был у диплоидных (от 75 до 120 мкм) и максимальным у тетраплоидных растений Кр-4 (от 60 до 150 мкм).

Выполненная пыльца, в отличие от дегенерирующей, имеет густо окрашенную цитоплазму и ядра. Показано, что по количеству выполненной пыльцы все тетраплоидные растения достоверно отличаются от диплоидных. Количество выполненной пыльцы у них варьирует от 79 до 89 %. Всю выполненную пыльцу разделили на 2 группы: нормального и аномального строения. Пыльцевые зерна нормального строения имеют шаровидную форму и содержат одно вегетативное ядро, два спермия и одну пору. При анализе аномальной пыльцы были выделены три типа: изменение числа клеточных элементов, увеличение числа пор и образование пыльцевых зерен атипичной формы. Только у тетраплоидных растений КрП-1 были обнаружены все типы аномалий. У диплоидных растений и тетраплоидных Кр-4 пыльцевые зерна с дополнительными порами и атипичной формой не обнаружены. Частота пыльцы аномального строения у КрП-1 была достоверно выше, чем у диплоидной линии и составила в среднем 10 %.

Только у тетраплоидных растений КрП-1 встречались крупные пыльцевые зерна неправильной формы: овальные, каплевидные, гантелевидные и более сложной формы. Этот тип аномалий практически не встречается у кукурузы и, возможно, является для данной тетраплоидной формы специфическим. Большинство таких пыльцевых зерен содержали одно вегетативное ядро и два спермия. Пыльцевые зерна с нарушением клеточной структуры встречались редко. Причиной появления пыльцы атипичной формы могли быть как нарушения в образовании клеточных перегородок в мейозе, так и нарушения микротрубочкового цитоскелета.

Изменение клеточной организации пыльцы были обусловлены либо остановкой развития на ранних стадиях и образованием одно- и двухъядерной пыльцы, либо увеличением числа ядер и клеток. Особый интерес представляет пыльца с дополнительными спермиями, которые могут иметь как нормальный, так и измененный набор хромосом. Заслуживает внимания, что наибольшее количество пыльцевых зерен (3,2 %) с дополнительными спермиями или с фрагментацией спермиев обнаружено у диплоидной линии Кр-440. У тетраплоидов прослеживается тенденция к делению вегетативного ядра и образованию пыльцевых зерен с двумя вегетативными ядрами и двумя спермиями.

Достаточно высокий процент пыльцы нормального строения у тетраплоидных растений указывает на их относительно высокую плодовитость. Общий показатель стерильности пыльцы у обеих тетраплоидных форм, определяемый суммой дегенерирующей пыльцы и пыльцы аномального

строения, не превышает 20-22 %. Однако широкий спектр структурных отклонений в строении зрелой пыльцы, а также повышенная вариабельность размеров пыльцевых зерен у тетраплоидов свидетельствуют о возможности образования у них пыльцы с измененным числом хромосом. Интересны случаи полиспермии в пыльцевых зернах, обнаруженные, в том числе, и у растений диплоидной линии. Известно, что полиспермия может быть причиной андрогенеза и полиэмбрионии. Несомненный интерес представляет также образование у тетраплоидной формы КрП-1 пыльцевых зерен атипичной формы, не описанных ранее у кукурузы. Не исключено, что данная тетраплоидная форма является уникальной для исследования онтогенеза пыльцы и может пополнить генетическую коллекцию эмбриологических мутаций. Все это указывает на специфику ряда показателей пыльцы у исследованных растений, которые следует учитывать в экспериментальной и селекционной работе.

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент Л.П. Лобанова.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Лантев Ю.П.* Гетероплоидия в селекции растений. М.: Колос, 1984. 248 с.
2. *Хатефов Э.Б.* Семенная продуктивность тетраплоидной кукурузы и пути ее повышения в условиях Кабардино-Балкарии: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Санкт-Петербург, 2012. 45 с.
3. *Tyrnov V.S., Kolesova A., Smolkina Y.* The possibility of producing tetraploid analogies from maize parthenogenetic lines // *Maize Genetics Cooperation Newsletter*. 2006. Vol. 80. P. 27.
4. *Lobanova L.P., Kolesova A.Y.* Maize tetraploid pollen studies // *Maize Genetics Cooperation Newsletter*. 2010. Vol. 84. P. 36.
5. *Лобанова Л.П., Колесова А.Ю., Анохина И.С., Долотова Н.Л.* Особенности развития пыльцы у тетраплоидной кукурузы // *Бюллетень ботанического сада Саратовского государственного университета*. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2010. Вып. 9. С. 156 – 161.

*Д.Ю. Тюлин*

#### ОЦЕНКА ЕСТЕСТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА РЫБ В ВОЛГОГРАДСКОМ ВОДОХРАНИЛИЩЕ ПО НАБЛЮДЕНИЯМ ЗА УРОЖАЙНОСТЬЮ МОЛОДИ В 2015 Г.

Сбор материала по урожайности молоди рыб проводился в августе 2015 г. на мелководных участках водохранилища по стандартной сетке станций. Сбор и обработка материалов осуществлялись по общепринятой методике [1–3]. Видовая принадлежность мальков устанавливалась по определителю А.Ф. Коблицкой [4]. Пробы отбирались мальковой волокушей длиной 10 м, высотой крыла 2 м, с ячей в крыльях 8 мм, в кутке 3 мм. Всего в 2015 г. было

произведено 36 притонений мальковой волокушей, проанализировано и промерено 5 тыс. экз. молоди рыб. Относительная численность рассчитывалась путём приведения данных уловов мальковой волокуши на единицу площади [1, 7, 8]. Согласно данным литературы, для успеха размножения важное значение имеют высота уровня, продолжительность стояния воды на высоких отметках и синхронность её прогрева с подъёмом уровня, обеспечивающая созревание половых продуктов в соответствии с наличием условий для нереста [8, 9]. Для успешного размножения и нагула молоди рыб в Волгоградском водохранилище необходим медленный подъем уровня воды до оптимальных отметок к концу апреля – началу мая (16.5-17 м БС), длительное (в течение 30-35 дней) стояние на этих отметках с последующим медленным (с начала июня) понижением уровня до меженных показателей в июле [10].

Динамика уровня воды весной 2015 г. характеризовалась относительной нестабильностью уровневого режима. Понижение уровня отмечалось в первой половине апреля. Далее наблюдался сравнительно плавный подъем уровня воды, который достиг относительно невысокого значения (15.5 м. БС по данным метеопоста у г. Саратова) 8-9 мая. Продолжительность стояния уровня воды на  $15.5 \pm 0.1$  м сохранялась очень непродолжительное время (2 дня), а затем наблюдалось постепенное понижение уровня. Меженная отметка уровня (15 м БС) была достигнута к 30-31 мая.

Весной 2015 г., в период нереста рыб, благодаря летованию водоёма, вызванному пониженным уровнем воды в меженный период 2014 г., вычисленная площадь залитых мелководий составила 35 тыс. га. Средняя величина дефицита нагульной и нерестовой площади в сложный для размножения период этого года составила около 20 тыс. га.

Для 2015 г. в целом можно отметить следующие благоприятные факторы: 1) большая степень синхронности прогрева воды с поднятием её уровня; 2) малая амплитуда колебаний уровневого режима в период нереста рыб.

Более корректную оценку условий воспроизводства рыб можно получить используя интегрирующий показатель – урожайность молоди рыб. По результатам мальковой съёмки в 2015 г. урожайность молоди рыб оценивается в 31.1 тыс. экз./га в составе 18 видов. В общей численности доминируют непромысловые виды (58,3%), среди которых преобладают: уклейка (*Alburnus alburnus* (Linnaeus, 1758)), горчак (*Rhodeus sericeus* (Pallas, 1776)), игла-рыба (*Syngnathus abaster* Risso, 1827). Промысловых рыб незначительно меньше (41,7%), среди них преобладают: плотва (*Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758)), окунь (*Perca fluviatilis* Linnaeus 1758), лещ (*Abramis brama* (Linnaeus, 1758)), голавль (*Leuciscus cephalus* (Linnaeus, 1758)). Наибольшая доля приходится на плотву (*R. rutilus*) (33,4%) (табл.).

Для оценки урожайности молоди рыб использовалась пятибалльная шкала оценки урожайности молоди [13]. Урожайность молоди рыб, укладываемая в интервал между 37.2 и 11.5 тыс. экз./га, соответствует средней урожайности (условия размножения рыб средние); в интервале между 11.5 и 5.2 тыс. экз./га – низкой (условия размножения неблагоприятные); между 37.2 и 79.4 тыс. экз./га – высокой (условия размножения благоприятные).

Все значения менее 5.2 тыс. экз./га соответствуют очень низкой урожайности (условия размножения весьма неблагоприятные), более 79.4 тыс. экз./га – очень высокой урожайности молоди рыб (условия размножения достаточно благоприятные).

Таблица

Состав уловов молоди в Волгоградском водохранилище в 2015 г.

Виды рыб	Состав улова	
	экз./га	%
<b>Всего промысловые:</b>	<b>12560.9</b>	<b>41.71</b>
В т.ч. окунь	829.5	2.75
краснопёрка	155.8	0.52
голавль	518.6	1.72
карась серебряный	77.6	0.26
плотва	10046.2	33.37
лещ	739.1	2.45
язь	116.7	0.39
жерех	51.9	0.17
линь	12.8	0.04
рыбец	12.8	0.04
<b>Всего непромысловые:</b>	<b>17551.9</b>	<b>58.29</b>
в т.ч. уклейка	13637.2	45.29
игла-рыба	674.3	2.24
бычок-песочник	12.8	0.04
бычок-цуцик	272.4	0.9
бычок-кругляк	39.1	0.13
горчак	2735.3	9.08
щиповка	155.8	0.52
ротан	25.7	0.09
<b>Итого:</b>	<b>30112.8</b>	<b>100</b>

Согласно урожайности молоди, равной 30.1 тыс. экз./га, условия воспроизводства рыб в Волгоградском водохранилище в 2015 г. следует признать средними.

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор Г.В. Шляхтин; научный консультант – канд. биол. наук В.П. Ермолин.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Черепанов К.М. Особенности воспроизводства рыбных запасов на Волгоградском водохранилище / К.М. Черепанов // Тр. / ГосНИОРХ. – Вып.315. – 1995. – С.47-60
2. Расс Т.С., Казанова И.И. Методическое руководство по сбору икринок, личинок и мальков рыб // М.: «Пищевая промышленность», 1966. 42 с.
3. Пахоруков А.М. Изучение распределения молоди рыб в водохранилищах и озёрах. М., 1980. 64 с.

4. *Коблицкая А.Ф.* Определитель молоди пресноводных рыб. М.: «Легкая и пищевая промышленность», 1981. – 208 с.
5. Методические указания по оценке численности рыб в пресноводных водоемах. – М.. 1990. –51 с.
6. *Миротворцев С.Р.* Оценка урожайности молоди и эффективности ее выживания на первом году жизни в Волгоградском водохранилище // Тр. ГосНИОРХ, 1983. Т. 199. С. 76-83.
7. *Правдин И.Ф.* Руководство по изучению рыб: Руководство / И.Ф. Правдин. – М.: Изд-во «Пищевая промышленность», 1966. – 376 с.
8. *Елизарова Н.С.* Особенности размножения леща [*Abramis brama* (L)] Волгоградского водохранилища / Н.С. Елизарова // Вопросы ихтиологии. – 1968. – Т. 8. – Вып. 2(49). – С. 368-370.
9. *Владимиров В.И.* Размножение рыб в условиях зарегулированного стока реки / *В.И. Владимиров, П.Г. Сухойван, К.С. Бугай.* – Киев: Изд-во АН УССР, 1963.– 385 с.
10. Биологическое обоснование поддержания оптимального уровня воды на Волгоградском водохранилище в целях повышения продуктивности стад основных промысловых ценных видов рыб. – Фонды СО ФГНУ ГосНИОРХ. – Саратов, 2005. 26 с
11. *Закора Л. П.* Мелиоративно-акклиматизационные работы как основа повышения рыбопродуктивности волгоградского водохранилища. – С. н. тр. ГосНИОРХ, 1995, вып. 315.
12. *Небольсина Т.К., Мосияш С.С.* Состояние естественного воспроизводства рыб в Волгоградском водохранилище и мероприятия по его улучшению. – Сб. науч. тр. ГосНИОРХ, вып. 315, 1995, с. 38-46.
13. *Ермолин В.П., Матвеев М.П., Колпаков Ю.В.* Пятибальная шкала оценки урожая молоди рыб на примере Волгоградского водохранилища. Вавиловские чтения. Материалы Международной научно-практической конференции 25-26 ноября 2009 г. Ч. 1. С. 272-273.

***Е.А. Филимонова, Д.А. Тихонова, К.В. Савина***

## ПОИСК ЭФФЕКТИВНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЕСТРУКТОРОВ В ПОЧВЕ ПОЛИГОНОВ ЗАХОРОНЕНИЯ ПЕСТИЦИДОВ

Интенсивное применение пестицидов в сельском хозяйстве приводит к накоплению непригодных и запрещенных препаратов, которые должны подвергаться утилизации. По данным Областной целевой программы «Системы химической и биологической безопасности Саратовской области» на 2010 – 2013 годы на территории области, по результатам инвентаризации, проведенной в 2008 году непригодные и запрещенные к применению пестициды 1,2,3,4-го классов опасности находятся в 13 районах области в количестве 496,9 тонн. Основным способом утилизации пестицидов является захоронение их в почве. В результате нарушения режимов хранения пестициды проникают в почву, распространяются с осадками и грунтовыми водами и накапливаются в почве [1-3]. В результате длительного контакта почвы с

химикатами среди почвенных микроорганизмов происходит адаптация к высоким концентрациям пестицидов и происходит накопление штаммов деструкторов.

В связи с этим целью работы явилось выделение и изучение доминирующих микробных популяций дикой микрофлоры почв, длительно загрязненных пестицидами и изучение их деструктивной способности.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Провести сравнительный анализ численности основных физиологических групп микроорганизмов в загрязненной почве и почве фоновой территории;
2. Отобрать и идентифицировать штаммы, способные использовать пестицид как источник углерода.
3. Изучить выделенные штаммы на наличие патогенных свойств.

Образцы почв для исследований предоставлены отделом земельного контроля (надзора) Управления Россельхознадзора по Саратовской области. Отбор проб произведен в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02-84 в июле 2014 года с мест захоронения пестицидов в Советском и Краснопартизанском районах Саратовской области. Выделение микроорганизмов из почвы проводили согласно стандартным методикам [4]. Идентификацию культур осуществляли на основании культуральных, морфологических и физиолого-биохимических свойств бактерий. Отбор штаммов, способных использовать пестициды проводили путем посева чистых культур исследуемых штаммов на плотную синтетическую минеральную среду М9, содержащую пестицид в качестве единственного источника углерода в концентрации 200 мкг/мл и 5% раствор 2,3,5 – трифенилтетразолий хлорид (ТТХ), в качестве индикатора дегидрогеназной активности [5]. (Гранатская, 1996). Отбор штаммов деструкторов проводили по отношению к ГСО пестицидов «Прометрин», «Дихлордифенил трихлорметилметан» (4,4-ДДТ) и «Гексахлорциклогексан» (ГХЦГ). Выбор данных пестицидов обусловлен их захоронением в 2010 г. в места отбора проб.

Определение факторов патогенности у выделенных штаммов проводили на наличие мацерации, плазмокоагуляционной, гемолитической и летициназной активности [6].

В ходе эксперимента в почве зоны захоронения пестицидов и фоновой территории была установлена численность основных групп микроорганизмов, участвующих в почвообразовательном процессе (табл.).

Анализ полученных данных показал, что в загрязненной почве увеличена численность гетеротрофных и азотфиксирующих бактерий, но снижено количество плесневых грибов и амилитических бактерий. Видимо, наличие в почве пестицидов как органического вещества стимулировало размножение органотрофных бактерий. А снижение плесневых грибов может быть вызвано наличием в загрязненной почве фунгицидов, ингибирующих их рост. Изучение численности микроорганизмов так же показало, что доминирующей группой в



загрязненной почве явились гетеротрофные бактерии. Поэтому поиск деструкторов проводили именно в этой группе.

Таблица

Численность почвенных микроорганизмов на территории захоронения пестицидов

Группы бактерий	Краснопартизанский район	Советский район	Фоновая территория на расстоянии 100м
Азотфиксирующие бактерии	$3,8 \pm 0,1 \cdot 10^7$	$7,6 \pm 0,4 \cdot 10^6$	$1,4 \pm 0,2 \cdot 10^6$
Амилолитические бактерии	$2,7 \pm 0,2 \cdot 10^5$	$3,2 \pm 0,3 \cdot 10^5$	$2,7 \pm 0,7 \cdot 10^6$
Гетеротрофные бактерии	$4,0 \pm 0,2 \cdot 10^8$	$5,1 \pm 0,5 \cdot 10^7$	$2,5 \pm 0,6 \cdot 10^8$
Плесневые грибы	$1,6 \pm 0,2 \cdot 10^4$	$1,8 \pm 0,3 \cdot 10^5$	$3,6 \pm 0,1 \cdot 10^5$

В ходе работы было выделено 18 штаммов бактерий, доминирующих популяций, содержащиеся в почве в концентрации  $10^6$  КОЕ/мл. Данные культуры были идентифицированы и изучены на возможность использовать пестициды в качестве единственного источника углерода.

Анализ полученных данных показал, что бактерии родов *Bacillus* и *Staphylococcus* не способны деструктировать ни один из исследуемых пестицидов. Бактерии рода *Amphibacillus* sp. в качестве единственного источника углерода использовали только 4,4-ДДТ, а штаммы *Pseudomonas putida* и *Jonesia denitrificans* оказались деструкторами всех сразу трех пестицидов.

Таким образом, исследования показали, что в местах захоронения химикатов в почве содержатся микроорганизмы деструкторы, не только адаптированные к высоким концентрациям загрязняющих веществ, но и обладающие способностью к разложению различных по химической природе соединений. По результатам экспериментов, полученные штаммы бактерий *Pseudomonas putida* и *Jonesia denitrificans* являются перспективными штаммами для создания биопрепаратов, предназначенных для восстановления загрязненных земель. Однако, при отборе штаммов, рекомендуемых для практического использования в объектах окружающей среды, необходимо проводить их полную биологическую характеристику. Важным условием, предъявляемым к производственным штаммам, является отсутствие у них свойств патогенности. В связи с этим, у отобранных штаммов были изучены некоторые факторы патогенности для растений и животных. По результатам эксперимента ни один из штаммов не обладал гемолитической, плазмокоагуляционной, лецитиназной активностью и не осуществлял мацерацию клубней картофеля, моркови и свеклы.

На основании полученных данных можно рекомендовать штаммы *Pseudomonas putida* и *Jonesia denitrificans* для создания на их основе высокоэффективного экологически безопасного препарата, предназначенного для очистки почвы, загрязненной сразу несколькими пестицидами: «Прометрин», «Дихлордифенил трихлорметилметан» (4,4-ДДТ) и «Гексахлорциклогексан» (ГХЦГ).

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Путилина В.С.* Миграция загрязняющих органических соединений в подземные воды / Геоэкология, инженерная геология, гидрогеология, геоэкология. 2003. №4. С. 309-317.
2. *Скоблина В.И.* Особенности поведения гербицидов в почве (разложение и миграция гербицидов) / Экологическая безопасность в АПК. Реферативный журнал.. Москва. 2003. С 452.
3. *Волгина Т.Н., Новиков В.Т., Регужева Д.В.* Пути распространения пестицидов в объектах окружающей среды / Региональные проблемы. 2010. Т.13, №1. С. 76-81.
4. *Егоров Н.С.* Руководство к практическим занятиям по микробиологии. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 222 с.
5. *Гранатская Т.А.* Способ выявления микроорганизмов – деструкторов ксенобиотиков / Т.А. Гранатская [и др.] // Патент Российской Федерации № 2051961, кл С12N1/20. – 1996.
6. *Головин П.Н., Арсеньева М.В., Тропова А.Т., Шестиперова З.И.* Практикум по общей фитопатологии. Л.: Колос, 1977. 239 с.

***О.И. Фирсунина***

### ХАРАКТЕРИСТИКА БЕРЕЗНЯКОВ РЕКРЕАЦИОННОЙ ЗОНЫ Г.САРАТОВА

В современном растительном покрове Приволжской возвышенности удельный вес берёзовых сообществ достаточно велик, но он заметно понижается, хотя берёза может произрастать на различных почвах, она засухоустойчива и зимостойка, а её плоды легко переносятся ветром на значительные расстояния. Понижение удельного веса берёзовых сообществ на исследуемой территории связано со многими факторами, в частности с превышением уровня допустимой антропогенной нагрузки и осложнением экологической обстановки. Современные березняки возникли после рубок коренных сосново-берёзовых лесов, но большая часть березняков появилась после сплошных рубок сосново-широколиственных лесов, а также вследствие пожаров [1-3].

В пределах рекреационной зоны г. Саратова выявлено двадцать четыре варианта березовых сообществ, из них чистых березняков – 63%, липо-березняков – 25%, дубо-березняков 8% и клено-березняков – 4%.

Березовые сообщества встречаются в различных орографических условиях. В плакорных местообитаниях преобладают чистые березовые сообщества, на световых склонах распространены липо-березняки и дубо-березняки. На теневых склонах преобладают чистые березовые сообщества, липо-березняки и дубо-березняки редки.

Среди всех вариантов березовых сообществ наиболее широко распространены березняк ландышевый, березняк коротконожковый и липо-березняк ландышевый.

Высота древостоя основной лесобразующей породы в изученных сообществах варьирует от 10м до 17,3м и среднем составляет 13,8м. Подрост состоит из клёна платановидного (*Acer platanoides* Linnaeus), реже липы мелколистной (*Tilia cordata* Miller), дуба черешчатого (*Quercus robur* Linnaeus) и рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* Linnaeus). Кустарниковый ярус выделяется не во всех фитоценозах, но если он есть, то слагается в основном кустарниковой формой вяза мелколистного (*Ulmus pumila* Linnaeus), а также бересклетом бородавчатым (*Euonymus verrucosa* Scopoli). Для фитоценозов в травяном ярусе характерно наличие следующих видов: ландыш майский (*Convallaria majalis* Linnaeus), мятлик дубравный (*Poa nemoralis* Linnaeus), звездчатка ланцетовидная (*Stellaria holostea* Linnaeus), осока волосистая (*Carex pilosa* Scopoli), подмаренник цепкий (*Galium aparine* Linnaeus), подмаренник мареновидный (*Galium rubioides* Linnaeus), овсяница луговая (*Festuca pratensis* Hudson), перловник поникающий (*Melica nutans* Linnaeus), осока ранняя (*Carex praecox* Schreber), коротконожка перистая (*Brachypodium pinnatum* Linnaeus), земляника лесная (*Fragaria vesca* Linnaeus), сныть обыкновенная (*Aegopodium podagraria* Linnaeus.), марьянник дубравный (*Melampyrum nemorosum* Linnaeus), вейник наземный (*Calamagrostis epigeios* Linnaeus), пырей ползучий (*Elytrigia repens* Linnaeus). Проективное покрытие травостоя в среднем составляет 57,6%. Характеристики некоторых изученных сообществ приведены в таблице.

Таблица

Характеристика различных вариантов березовых сообществ

Название сообществ	Древостой			Подлесок		Травостой	
	Высота, м	Диаметр, см	Сомк. крон, %	Высота, м	Сомк. крон, %	Высота, м	ОПП, %
Березняк ландышевый	$\frac{11,9 \pm 0,5}{10-15,5}$	$\frac{44,8 \pm 0,8}{30-47}$	$\frac{64,7 \pm 0,1}{55-75}$	$\frac{1,2 \pm 0,2}{2,2-6}$	$\frac{40,4 \pm 4,7}{25-60}$	$\frac{23,7 \pm 1,1}{15-30}$	$\frac{80,0 \pm 5,0}{70-90}$
Березняк марьянниковый	$\frac{12,8 \pm 0,6}{9-17,5}$	$\frac{41,3 \pm 1,5}{34,8-48,8}$	$\frac{60 \pm 2,5}{45-75}$	$\frac{1,2 \pm 0,1}{0,5-2}$	$\frac{54,2 \pm 5,3}{40-70}$	$\frac{19,5 \pm 3,4}{12-27}$	$\frac{57,7 \pm 2,8}{45-70}$
Березняк коротконожковый	$\frac{11,9 \pm 0,4}{10-14}$	$\frac{39,6 \pm 0,4}{36,4-47,9}$	$\frac{72,2 \pm 1,1}{65-80}$	Не выражен		$\frac{30,6 \pm 3,4}{23-40}$	$\frac{82,5 \pm 1,2}{75-95}$
Березняк мятликовый	$\frac{15,6 \pm 1,3}{10,5-18,5}$	$\frac{34,2 \pm 1,8}{30,6-37,5}$	$\frac{47,2 \pm 6,3}{30-60}$	Не выражен		$\frac{31,4 \pm 4,7}{18-92}$	$\frac{40 \pm 4,8}{20-60}$
Березняк земляничный	$\frac{12 \pm 0,07}{10-15}$	$\frac{38 \pm 1}{36-40}$	$\frac{78 \pm 4,3}{70-90}$	Не выражен		$\frac{27,9 \pm 5,2}{15-40}$	$\frac{58,7 \pm 2,8}{40-70}$
Березняк волосистоосоковый	$\frac{13 \pm 0,2}{12-14,5}$	$\frac{43,4 \pm 0,6}{38,7-48}$	$\frac{65 \pm 2,6}{50-70}$	$\frac{0,9 \pm 0,2}{0,8-2,3}$	$\frac{8 \pm 0,4}{5-10}$	$\frac{17,5 \pm 0,1}{7,5-20}$	$\frac{20 \pm 0,9}{15-25}$
Березняк снытево-волосистоосоковый	$\frac{13,2 \pm 0,8}{9-17}$	$\frac{46 \pm 0,8}{34-48,4}$	$\frac{65,5 \pm 5,2}{50-80}$	$\frac{1,7 \pm 0,05}{1,6-2,2}$	$\frac{44 \pm 2,3}{30-60}$	$\frac{45,3 \pm 3,6}{30-60}$	$\frac{77,6 \pm 3,7}{65-95}$
Березняк волосистоосоково-ландышевый	$\frac{14,6 \pm 0,4}{10,5-19}$	$\frac{33,9 \pm 0,7}{31-38,7}$	$\frac{66,2 \pm 1,8}{50-80}$	Не выражен		$\frac{50,5 \pm 2,6}{20-65}$	$\frac{49,5 \pm 3,7}{20-80}$
Липо-березняк ландышевый	$\frac{17,3 \pm 0,6}{15-20}$	$\frac{37,4 \pm 1,9}{34,5-40,5}$	$\frac{58 \pm 4}{40-70}$	Не выражен		$\frac{37 \pm 0,6}{35-40}$	$\frac{62,7 \pm 3,6}{55-70}$

Научный руководитель – канд. биол. наук, доцент В.В. Пискунов.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Барабанищikov А.С.* Берёзовые, осиновые и липовые типы леса Саратовской обл. // Тр. Саратовского с-х ин-та, 1970. Т. 25. 211с.
2. *Болдырев В. А.* Естественные леса Саратовского правобережья. Эколого-ценотический очерк. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2005. 92 с.
3. *Благовещенский В. В.* Растительность Приволжской возвышенности в связи с ее историей и рациональным использованием. Ульяновск: УлГУ, 2005. 715с.

**Э.С. Халилов**

### АСПЕКТЫ ДЕСТРУКЦИИ НИДИКОЛЬНОЙ ФАУНЫ ЖЕСТКОКРЫЛЫХ НАСЕКОМЫХ (INSECTA: COLEOPTERA) В НОРАХ *MARMOTA BOBAK* (MÜLLER, 1776) НА СЕВЕРЕ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

Жесткокрылые-нидиколы служат важным компонентом норных экосистем, выступают регуляторами численности паразитов позвоночных животных, важными потребителями органических остатков и продуктов жизнедеятельности. В свою очередь норы представляют собой уникальные местообитания, которые обладают собственным микроклиматом, отличаются повышенной концентрацией органического вещества, благоприятной для перехода к жизни в них разных групп почвенных членистоногих. При этом для наиболее тесно связанных с норными местообитаниями ботриобионтных жесткокрылых характерна высокая степень стенофитности, что делает их весьма восприимчивыми и уязвимыми к состоянию норных сообществ организмами. Основопологающим фактором для образования и поддержания целостности нидаликовых сообществ является наличие животного-хозяина модифицирующего среду, без которого сообщества нарушаются и деградируют. Настоящая статья является попыткой проследить изменения, происходящие в фауне нидаликовых жесткокрылых при покидании нор хозяином, на примере *Marmota bobak* (Müller, 1776).

Отбор проб осуществлялся в поздневесенний – летний период 2013–2015 гг. на северо-востоке Саратовской области на территории национального парка «Хвалынский». Мы использовали упрощенную модификацию метода ловчих цилиндров [1]. Цилиндры представляли собой 0,5 л пластиковые стаканы высотой 15 см и диаметром 9 см. В качестве фиксирующего раствора использовался 1% формалин. Смена наполняющей жидкости производилась каждые 24 часа. Для определения суточной активности нидаликов ловушки осматривались дважды в сутки, следовательно, мы выделяли утренний сбор (время экспозиции цилиндров с 20:00 до 9:00) и вечерний сбор (время экспозиции цилиндров с 10:00 до 18:00). Материал после изъятия из цилиндров помещался в пробирки типа Эппендорф с 70% спиртом для последующей камеральной обработки. За время исследования в норах сурков было собрано более 1000 экземпляров беспозвоночных из различных таксономических групп, 450 экземпляров (~45%) из них составили жесткокрылые 25 семейств [2].

За период 2013–2015 гг. мы наблюдали изменение качественной и количественной представленности отдельных групп нидикольных жесткокрылых (в частности, резкое уменьшение Scarabaeidae в летних сборах 2014 г. и полное отсутствие их в 2015 г.), что, на наш взгляд, связано с уходом сурков из нор. Вероятно, определяющим фактором стало расположение в 2014 г. в зоне наблюдений пасеки, охраняемой собаками, которые и могли спровоцировать сурков покинуть обжитые норы. Например, только в летних сборах начиная с 2014 г. отмечаются пауки, личинки цикадовых и Coccinellidae, имаго ихневмонидных наездников. В 2015 г. в пробах уже тотально преобладают Chrysomelidae (85,5%), с наличием Tenebrionidae (6,5%) и Curculionidae (4,8%), а такие ботробионтные виды, как *Aphodius isajevi* Kabakov, 1994 и *Onthophagus ponticus* Harold, 1883, отмеченные в жилых норах 2013 г., отсутствуют. В 2015 г. норная фауна стала состоять полностью из факультативных нидиколов, более характерных для окружающих открытых биотопов. Наиболее ярко это прослеживается на смене экологических групп нидикольных жесткокрылых (рис.).

Как видно из диаграммы, с уходом сурков наблюдается деградация нидикольных сообществ, выражающаяся в замене ботробионтов и ботрофилов группой ботроксенов и случайно попавшими в пробы жесткокрылыми.



Рис. Динамика относительного обилия экологических групп нидикольных жесткокрылых в норах *M. bobak* в 2013–2015 гг.

Таким образом, прослежено, что при уходе вида-хозяина истинная норная фауна замещается более эвритопными видами из окружающих биотопов, стенотопные ботробионтные виды исчезают, что подчеркивает их тесную связь с сурками, резко изменяется соотношение экологических группировок нидикольных жесткокрылых, претерпевает изменения таксономическая структура сообщества.

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор В.В. Аникин;  
научный консультант – канд. биол. наук А.С. Сажнев.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Фасулати К.К.* Полевое изучение наземных беспозвоночных. – М.: Высшая школа, 1971. – 424 с.
2. *Сажнев А.С., Халилов Э.С.* Материалы к фауне нидикольных жесткокрылых (Insecta: Coleoptera) Саратовской области / А.С. Сажнев, Э.С. Халилов // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. – Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2015. – Вып. 12. – С. 151–153.

*Е.А. Шаркова, А.А. Андреева*

### ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КИРКАЗОНА ЛОМОНОСОВИДНОГО И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА КУЛЬТУРУ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК SPEV - 2

В настоящее время наблюдается высокая заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований. Поэтому осуществляется поиск новых препаратов растительного происхождения с противоопухолевой активностью и широким спектром действия, низкими побочными эффектами. Известно, что настой надземной части кирказона ломоносovidного, *Aristolochia clematitis* L., 1753, применялся в народной медицине как лекарство от рака предстательной железы [1].

Цель исследования: изучить химический состав и влияние экстракта кирказона ломоносovidного в эксперименте *in vitro* на культуру клеток почки эмбриона свиньи, зараженных онковирусом (SPEV-2).

Материалом послужило сырье (надземная часть) кирказона ломоносovidного (*A. clematitis*), собранного в Лысогорском районе Саратовской области близ с. Атаевка, и экстракт растения, полученный запатентованным способом, направленным на выход биофлавоноидов [2].

Исследовано содержание фенольных соединений в экстракте методом Фолина – Чокалтеу [3]. Наличие в составе экстракта биофлавоноидов и дубильных веществ показано качественными реакциями. Для исследования химического состава экстракта был использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Идентификацию компонентов смеси в экстракте проводили сравнением времен их удерживания с таковыми у стандартных образцов флавоноидов: рутина, нарингина, апигенина, нарингенина, прунина ( $\geq 95\%$ , «Sigma-Aldrich», США). Анализ выполняли методом обращеннофазовой ВЭЖХ на хроматографе Dionex Ultimate 3000 («Thermo Scientific», США) с использованием колонки Luna 5u C18(2) 100A, 5 мкм 4,6 мм × 150 мм («Phenomenex», США).

В качестве модели опухолевых клеток использовали культуру SPEV-2 (адгезионная культура эмбриональной почки свиньи, зараженная онковирусами «а» и «в») [4]. Сухой экстракт растворяли в культуральной среде RPMI 4. При исследовании противоопухолевой активности анализировали следующие

концентрации экстракта кирказона ломоносовидного: 30; 15; 7,5; 3,8; 1,9; 0,9 мг/мл. Контролем служили клетки в питательной среде без добавления экстракта. Клетки культуры SPEV – 2 культивировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе при 37 °С в течение 24 часов после чего окрашивали красителями и подвергали анализу. В качестве красителя использован йодистый пропидий, как интеркалирующий в нуклеиновые кислоты и не проникающий через неповрежденные клеточные мембраны, поэтому окрашивает только мертвые клетки. Акридиновый оранжевый окрашивает только живые клетки. Клетки подвергали фотосъемке с использованием нескольких микроскопических режимов регистрации светорассеяния и флуоресценции (на световом микроскопе Leica DM 2500, конфокальном микроскопе Leica LSM SP – 5). При анализе клеток рассчитывались следующие показатели: количество мертвых клеток, количество живых клеток, общее количество клеток, процент мертвых клеток от общего количества.

Содержание общего количества фенольных соединений в экстракте кирказона определяли колориметрическим методом, основанным на реакции формирования окрашенных в синий цвет комплексов при взаимодействии фенолов и полифенолов в щелочной среде с солями фосфорновольфрамовой и фосфорномолибденовой кислот, входящих в состав реактива Фолина-Чокалтеу [3]. Было установлено, что среднее содержание фенольных соединений в сухом экстракте кирказона ломоносовидного не превышало 8%.

При добавлении к раствору экстракта кирказона основного ацетата свинца появлялось желто-оранжевое окрашивание, которое свидетельствовало о наличии флавоноидов. При прибавлении железо-аммиачных квасцов наблюдали окрашивание водного извлечения в черно-зеленый цвет, что позволило выявить присутствие дубильных веществ.

Результаты исследования растворов экстракта кирказона ломоносовидного методом ВЭЖХ позволили выявить присутствие большого количества фракций, соответствующих полярным компонентам. Фракции, относящиеся к полифенолам, удалось идентифицировать по флуоресценции в ультрафиолетовом свете. При сравнении времён удерживания флуоресцирующих в ультрафиолете веществ в экстракте обнаружены компоненты, соответствующие по временам удерживания стандартам нарингина (14,72 мин), прунина (14,98 мин).

Для выявления влияния экстракта на опухолевые клетки было изучено в экспериментах *in vitro* действие его раствора в шести приведённых выше концентрациях на адгезионную культуру эмбриональной почки свиньи, заражённую онковирусами «а» и «в» (SPEV-2). Сравнительные исследования действия различных концентраций экстракта, выразившиеся в частичной или полной гибели заражённых онковирусом клеток, позволили установить полуметальную концентрацию (LC<sub>50</sub>) экстракта кирказона, и она равнялась 7,5 мг/мл (рис.). К гибели всех заражённых клеток приводило действие экстракта кирказона в концентрациях 15 мг/мл и более.



Рис. Зависимость количества (%) погибших клеток (пробиты) от концентрации (мг/мл) в среде экстракта кирказона ломоносовидного. Определение  $LC_{50}$ .

Лекарственное растительное сырье, содержащее флавоноиды, является перспективным для получения производных этих веществ, обладающих лекарственным действием. На основе флавоноидов возможно создание новых лекарственных средств, обладающих различными видами активности.

Научный руководитель – д-р биол. наук, профессор С.А. Коннова; научный консультант – д-р биол. наук, профессор Н.В. Полуконова.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кирказон ломоносовидный [электронный ресурс] // Сам себе лекарь. Народная медицина. [электронный ресурс] : URL : <http://samsebelekar.ru/index/0-516> (дата обращения : 19.04.2016). Загл. с экрана. Яз. рус.
2. Пат. 2482863. Рос. Федерация, Способ получения сухого экстракта из растительного сырья, обладающего биологической активностью / Полуконова Н. В., Наволокин Н. А., Дурнова Н. А., Маслякова Г. Н., Бучарская А. Б. Заявка № 2012105384/15. от 15.02.2012, опубл. 27.05.2013.
3. Коннова С.А. Методы выделения и анализа флавоноидов высших растений и исследования их активности в отношении ризобактерий: учеб. пособие / Коннова С.А., Каневский М.В., Алиева З.О., Шувалова Е.П. ; авт. ред. Изд – во Сарат. ун – та, 2015. – 31 с. ил.
4. Культура клеток почки эмбриона свиньи, инфицированных онковирусом (SPEV-2) как модельный объект для исследования цитотоксического действия противоопухолевых средств на примере экстракта аврана (*Gratiola officinalis* L.) / Полуконова Н.В., Наволокин Н.А., Полуконова А.В., Бучарская А.Б., Маслякова Г.Н. // Бюл. Мед. инт.-конф. 2015. Т. 5. № 6 С. 926 – 928.



## КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ СИНЕГО (405 НМ) СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА В РАЗЛИЧНЫХ МОДИФИКАЦИЯХ НА *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Фотодинамическая терапия является новым методом в борьбе с патогенными бактериями. Фотодинамический эффект основывается на активации кислорода квантом света при участии фотосенсибилизатора. Поэтому важно выбрать наиболее эффективные компоненты для данного метода [1].

В качестве фотосенсибилизатора был выбран диоксид титана в различных модификациях. Диоксид титана обладает высокой химической стабильностью, низкой стоимостью, а также не является токсичным материалом [2].

Целью данной работы явилась оценка действия модификаций оксида титана и синего (405нм) светодиодного излучения на жизнеспособность микроорганизмов *Staphylococcus aureus*.

Экспериментальные исследования проводились на базе кафедры биохимии и биофизики Саратовского государственного университета.

В качестве исследуемого микроорганизма был использован метициллин-чувствительный штамм *S. aureus* 209 P. Микроорганизмы выращивали при температуре 37 °С на ГРМ-агаре (Россия, Оболенск).

В качестве источника излучения использовали светодиод с максимумом спектра испускания  $\lambda=405$  нм и плотностью мощности 70 мВт/см<sup>2</sup>.

В качестве фотокатализатора применялись 0,02% суспензии TiO<sub>2</sub>, обработанные N<sub>2</sub> (600°C, 4 часа, 2 °/мин (s25) и 20 °/мин (s26) изменения скорости нагрева), также TiO<sub>2</sub> обработанные NH<sub>3</sub> (600°C, 4 часа, 2 °/мин (s27) и 20 °/мин (s28) скорости нагрева). Гипсовые нановолокна были получены путем смешивания обожженного гипса и дистиллированной воды (GY:T2C). Также к нановолокнам были добавлены азот (GY:T2CN), палладий (GY:T2CPd10R) и комплекс из палладия и азота (GY:T2CNPd20R). Для проведения экспериментов использовали схему, разработанную ранее [3].

Анализ чувствительности *S. aureus* 209 P к комбинированному воздействию комплекса синего света (405 нм) и наночастиц диоксида титана показал следующие результаты (рис.).

Суспензии TiO<sub>2</sub>, обработанные NH<sub>3</sub> (s27 и s28), показали незначительную эффективность через 5 и 10 мин облучения (КОЕ понижается на 30-32% и 35-40% соответственно), и более выраженную после 15-30 мин воздействия (до 65-75% сокращения КОЕ). Что касается нанопорошков TiO<sub>2</sub>, обработанных N<sub>2</sub> (s25 и s26), то использование их в качестве фотокатализаторов существенно усиливало действие синего излучения. Отмечено снижение числа КОЕ на 75-78% после 30 мин облучения (см. рис.1).

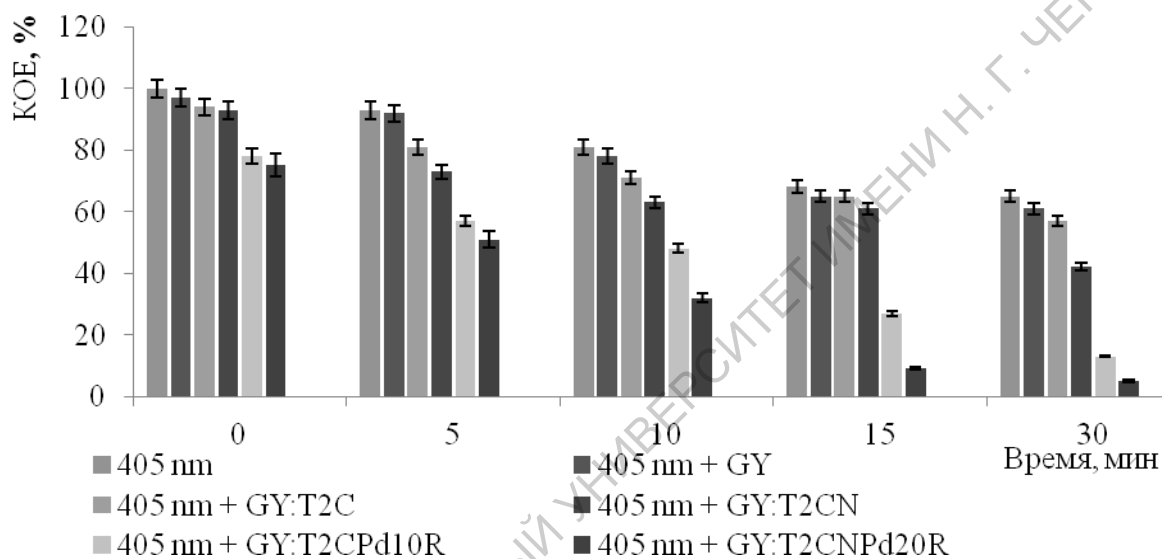
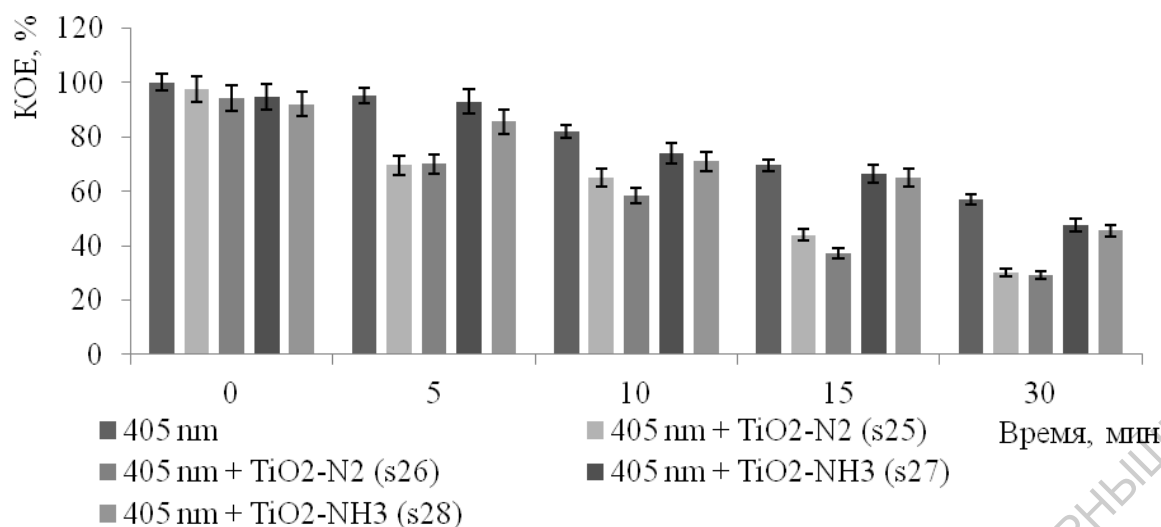


Рис. Изменение численности *S. aureus* 209 P при воздействии синего (405 нм) светодиодного излучения и модифицированных образцов диоксида титана: А – нанопорошки TiO<sub>2</sub>, Б – нанопленки TiO<sub>2</sub>

Гипсовые пленки с наночастицами TiO<sub>2</sub> без модификаций вызывают стабильное снижение КОЕ *S. aureus* на 10% при последовательном увеличении времени облучения. После 30 мин экспозиции наблюдалось снижение КОЕ до 57%. Пленки, легированные азотом, обеспечивали улучшение фотодинамического эффекта. Экспозиция излучения в течение 15 мин приводит к сокращению числа КОЕ *S. aureus* до 61% и далее снижается до 42% КОЕ после 30 мин. Добавление палладия увеличивает токсические свойства пленок (число КОЕ снижается на 15-20% на каждом шаге и составляет 13% после 30 мин воздействия). Образцы, содержащие палладий и азот показывают также высокие фотодинамические свойства для исследуемого стафилококка. Уменьшение КОЕ до 75% на 0 мин и последующее уменьшение на 20-27% для каждого шага времени.

Исходя из полученных в ходе исследования данных, можно сделать вывод, что модифицированные наночастицы диоксида титана усиливают деструктивный эффект светодиодного синего (405 нм) излучения на клетки золотистого стафилококка. При этом снижение численности бактерий во всех

случаях носило дозозависимый характер. Также можно сделать заключение, что тип наноматериала влияет на его фотокаталитические свойства: диоксид титана, обработанный азотом при 600°C, 4 часа и скорости нагрева 20 °/2 мин, а также гипсовые пленки диоксида титана, легированные азотом и палладием обеспечивали сокращение численности бактериальных клеток на 90-97%.

Научный руководитель – канд. биол. наук Е.С. Тучина.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *McCullagh C., Robertson, J.M., Bahnemann D.W., Robertson P.K.* The application of TiO<sub>2</sub> photocatalysis for disinfection of water contaminated with pathogenic micro-organisms: a review // *Res. Chem. Intermed.* – 2007. – Vol. 33. – P. 359-375
2. *Prasad G.K. et al.* Photocatalytic inactivation of spores of *Bacillus anthracis* using titania nanomaterials // *J. Hazard Mater.* – 2011. – Vol. 185, №2-3. – P. 977-982.
3. *Tuchina E.S., Tuchin V.V.* TiO<sub>2</sub> nanoparticle enhanced photodynamic inhibition of Pathogens // *Laser Phys. Lett.* – 2010. – Vol. 1–6. – P. 23-31.
4. *Mohl M. et al.* Titania Nanofibers in Gypsum Composites: An Antibacterial and Cytotoxicology Study // *J. Mater. Chem. B J. Mater. Chem. B.* – 2014. – Vol. 2. – P. 1307-1316.

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>Al-Bayati V.M.</b> СТХ-М ANTIBIOTIC RESISTANCE GENE IN UROPATHOGENIC ESCHERICHIA COLI (UPEC): GENOTYPIC IDENTIFICATION.....	3
<b>Аль Зубейди А.Ф.А., Токмакова Е.В., Верховский Р.А., Чемодурова А.А., Ковалева Я.О.</b> ИДЕНТИФИКАЦИЯ СУПРАГИНГИВАЛЬНОЙ ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ МЕТОДОМ ПЦР.....	6
<b>Балыкова А.Н.</b> САЙТ – НАПРАВЛЕННЫЙ МУТАГЕНЕЗ ГЕНА GMD2 БАКТЕРИИ <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> SP245.....	9
<b>Башинская А.Г.</b> ОЦЕНКА ОБИЛИЯ И АНАЛИЗ ПРОСТРАНСТВЕННОГО РАЗМЕЩЕНИЯ КОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ В ПОЙМЕ Р. МЕДВЕДИЦЫ.....	12
<b>Бороздина Л.О.</b> КАРТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ВИДОВОЙ ПЛОТНОСТИ ПТИЦ В ПОЙМЕ р. МЕДВЕДИЦЫ.....	15
<b>Бохина О.Д.</b> ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ БАРСУКА ( <i>MELES MELES</i> L.) В САРАТОВСКОМ ПРАВОБЕРЕЖЬЕ ЗА 2011-2015 ГОДА.....	17
<b>Васина Н. В., Петрунина А.А.</b> ВЛИЯНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ АЗОСПИРИЛЛ НА СОДЕРЖАНИЕ ПЕРОКСИДАЗ И ОКСИДА АЗОТА (NO) В ПРОРОСТКАХ ПШЕНИЦЫ.....	20
<b>Гекалюк А.С., Уланова М.В.</b> РОЛЬ БЕЛКОВ ГЕМАТО-ЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА В РАЗВИТИИ МОЗГОВЫХ ГЕМОРАНИЙ У НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС.....	23
<b>Жданова Е.Ю.</b> ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ КРЫС ПРИ РАЗВИТИИ РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ И КУПИРОВАНИИ ЕЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ.....	25
<b>Запорожская В.В.</b> ОСОБЕННОСТИ ФЕНОЛОГИИ <i>AEGOPODIUM PODAGRARIA</i> L.....	28
<b>Корченнова М.В., Швайко В.Ю.</b> ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОРФИРИНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ИХ КОМПЛЕКСОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ ОКСИДА ЖЕЛЕЗА III ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ СИНЕГО (405 нм) ИЗЛУЧЕНИЯ НА МИКРООГАНИЗМЫ.....	30
<b>Крицкая Т.А., Попова А.О., Пархоменко А.С.</b> ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ ПОПУЛЯЦИЯМИ И ВИДАМИ <i>CHONDRILLA</i> (ASTERACEAE) ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ ПО ДАННЫМ ISSR МАРКИРОВАНИЯ.....	33
<b>Кузнецов А.Г., Подзоров Е.А.</b> ПОДРОСТ КЛЕНА ОСТРОЛИСТНОГО ПОД ПОЛОГОМ НАГОРНЫХ ЛЕСОВ ПРИРОДНОГО ПАРКА «КУМЫСНАЯ ПОЛЯНА» Г. САРАТОВА.....	36
<b>Лаврентьев М.В.</b> БОТАНИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА <i>HEDYSARUM GRANDIFLORUM</i> PALL. И ФИТОЦЕНОЗОВ С ЕГО УЧАСТИЕМ В ЮЖНОЙ ЧАСТИ ПРИВОЛЖСКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ.....	38

<b>Литовченко И.Г.</b> УЧАСТИЕ ЯБЛОННОЙ ТЛИ ( <i>APHIS POMI</i> DE GEER, 1773) В РАСПРОСТРАНЕНИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ, ПОРАЖАЮЩИХ ПОБЕГИ ЯБЛОНЬ.....	41
<b>Магеррамов Ш.В.</b> ИЗУЧЕНИЕ МИКРОСПОРОГЕНЕЗА У РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ РАЗНОГО УРОВНЯ ПЛОИДНОСТИ.....	43
<b>Макашова М.А., Буданова А.А.</b> ВЫЯВЛЕНИЕ АЛЛЕРГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ЗАВОДСКОГО РАЙОНА Г. САРАТОВА С ПОМОЩЬЮ ПЫЛЬЦЕВОГО МОНИТОРИНГА И ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ ПЫЛЬЦЫ <i>CANNABIS SATIVA</i> .....	46
<b>Minjal M. Sh.</b> MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SEED OF SOME PROTECTED SPECIES OF <i>IRIS</i> (IRIDACEAE) IN SARATOV REGION	49
<b>Mohamed H.</b> CHARACTERIZATION OF FUNGAL COMMUNITIES ASSOCIATED TO APPLE PLANT ( <i>MALUS DOMESTICA</i> ) IN SARATOV REGION.....	51
<b>Морозов О.А.</b> ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ АСПЕКТ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ УГРЕВОЙ СЫПИ.....	53
<b>Никельшпарг М.И., Лаврентьев М.В.</b> ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАСЕКОМОГО-ГАЛЛОБРАЗОВАТЕЛЯ (HYMENOPTERA, CYNIPIDAE), РАЗВИВАЮЩЕГОСЯ НА ЯСТРЕБИНКЕ МОГУЧЕЙ ( <i>HERACIUM ROBUSTUM</i> FR. S. L.) .....	56
<b>Павлова Н.С.</b> ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФАУНЫ МУРАВЬЕВ (HYMENOPTERA, FORMICIDAE) ЛЕСНЫХ БИОТОПОВ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ.....	57
<b>Парфирова И.В.</b> ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЖЕНСКОГО ГАМЕТОФИТА У МУТАНТНЫХ ЛИНИЙ ТАБАКА.....	60
<b>Петров С.В.</b> БИОЛОГИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА БАКТЕРИЯМИ И ГРИБАМИ.....	62
<b>Разубаева В.И., Зинченко Е.М.</b> ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИИ МОЗГА НА «ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫЕ ЗОНЫ» КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС.....	65
<b>Рига Е.Ю.</b> ИЗУЧЕНИЕ ЗВУКОВЫХ СИГНАЛОВ МУРАВЬЕВ РОДА <i>FORMICA</i> (INSECTS: HYMENOPTERA) И МИРМЕКОФИЛЬНЫХ ЖЕСТКОКРЫЛЫХ РОДА <i>SCYDMAENUS</i> (INSECTS: COLEOPTERA), ОБИТАЮЩИХ СОВМЕСТНО.....	67
<b>Романов Н.И.</b> ВЛИЯНИЕ ЛЕКТИНА <i>AZOSPIRILLUM BRASILENSE</i> SP7 НА АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ КОРНЕЙ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ГИПО-, ГИПЕРТЕРМИИ И ЗАСОЛЕНИИ.....	69
<b>Севостьянова М.Н.</b> ЭКОЛОГО-ФАУНИСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РУКОКРЫЛЫХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ.....	72
<b>Серебрякова С.Ю.</b> ОЦЕНКА ЧИСЛЕННОСТИ И ЭКОЛОГИЯ МЕЛКИХ СОКОЛОВ ЮГО-ВОСТОЧНОГО ЗАВОЛЖЬЯ (В ПРЕДЕЛАХ САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ).....	74
<b>Страпко А.М.</b> ВЛИЯНИЕ СВЕТА НА РАННИЕ ЭТАПЫ МОРФОГЕНЕЗА ПРОРОСТКА ПШЕНИЦЫ.....	77

<b>Ткаченко Г.С. ВЫЯВЛЕНИЕ КОМПЛЕКСА ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ, ПОРАЖАЮЩИХ ПОБЕГИ ЯБЛОНЬ В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ, И РАЗРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕР БОРЬБЫ С НИМИ.....</b>	<b>80</b>
<b>Трущелева О.С., Джалилов Э.Х.О. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПЫЛЬЦЫ У ТЕТРАПЛОИДНЫХ ФОРМ КУКУРУЗЫ.....</b>	<b>82</b>
<b>Тюлин Д.Ю. ОЦЕНКА ЕСТЕСТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА РЫБ В ВОЛГОГРАДСКОМ ВОДОХРАНИЛИЩЕ ПО НАБЛЮДЕНИЯМ ЗА УРОЖАЙНОСТЬЮ МОЛОДИ В 2015 Г.....</b>	<b>84</b>
<b>Филимонова Е.А., Тихонова Д.А., Савина К.В. ПОИСК ЭФФЕКТИВНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЕСТРУКТОРОВ В ПОЧВЕ ПОЛИГОНОВ ЗАХОРОНЕНИЯ ПЕСТИЦИДОВ.....</b>	<b>87</b>
<b>Фирсунина О.И. ХАРАКТЕРИСТИКА БЕРЕЗНЯКОВ РЕКРЕАЦИОННОЙ ЗОНЫ Г.САРАТОВА.....</b>	<b>90</b>
<b>Халилов Э.С. АСПЕКТЫ ДЕСТРУКЦИИ НИДИКОЛЬНОЙ ФАУНЫ ЖЕСТКОКРЫЛЫХ НАСЕКОМЫХ (INSECTA: COLEOPTERA) В НОРАХ <i>MARMOTA BOVAK</i> (MÜLLER, 1776) НА СЕВЕРЕ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ...92</b>	<b>92</b>
<b>Шаркова Е.А., Андреева А.А. ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КИРКАЗОНА ЛОМОНОСОВИДНОГО И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА КУЛЬТУРУ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК SP7V – 2.....</b>	<b>94</b>
<b>Швайко В.Ю., Корченова М.В. КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ СИНЕГО (405 НМ) СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ И НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА В РАЗЛИЧНЫХ МОДИФИКАЦИЯХ НА <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>.....</b>	<b>97</b>

САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ГЕОРГИЯ ПЛЕРНЬШЕВСКОГО

Научное издание

**ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ  
В БИОЛОГИИ И ЭКОЛОГИИ**

*Сборник научных трудов*

ВЫПУСК 14

Материалы конференции публикуются в авторской редакции

Обложка Э. И. К а й б е л е в о й

Оригинал-макет подготовлен Е. В. Г л и н с к о й