

ПЕРМСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

**ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
И ПРИКЛАДНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯ
В БИОЛОГИИ
И ЭКОЛОГИИ**

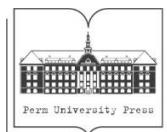


МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОЛОГИИ И ЭКОЛОГИИ

*Материалы региональной научной конференции
г. Пермь, ПГНИУ, 17–22 апреля 2023 г.*



Пермь 2024

УДК 57: 502/504
ББК 28
Ф947

Фундаментальные и прикладные исследования Ф947 в биологии и экологии [Электронный ресурс] : сборник статей по материалам региональной научной конференции (г. Пермь, ПГНИУ, 17–22 апреля 2023 г.) / гл. ред. А. А. Елькин; отв. ред. А. Б. Крашенинников ; Пермский государственный национальный исследовательский университет. – Электронные данные. – Пермь, 2024. – 2,89 Мб ; 229 с. – Режим доступа: <http://www.psu.ru/files/docs/science/books/sborniki/fundamentalnye-i-prikladnye-issledovaniya-v-biologii-i-ekologii-2023.pdf>. – Заглавие с экрана.

ISBN 978-5-7944-4091-1

Материалы конференции отражают результаты исследований по биологии и экологии, проводящихся в вузах г. Перми. Статьи сборника охватывают широкий спектр научных проблем в области биологии и экологии и представляют интерес для научных работников, преподавателей вузов и средних школ, аспирантов и студентов (биологов, экологов, географов).

УДК 57: 502/504
ББК 28

Издается по решению ученого совета биологического факультета Пермского государственного национального исследовательского университета

Редакционная коллегия:

М. А. Бакланов, С. В. Боронникова, А. А. Елькин (гл. редактор),
В. Е. Ефимик, А. Б. Крашенинников (отв. редактор), **Е. В. Сайдакова,**
О. Ю. Устинова О. А. Четина

Рецензенты: научный сотрудник лаборатории экотоксикологии, популяций и сообществ Института экологии растений и животных УрО РАН, канд. биол. наук **М. П. Золотарев**
зам. директора Института биологических проблем Севера ДВО РАН, канд. биол. наук **Е. В. Хаменкова**

ISBN 978-5-7944-4091-1

© ПГНИУ, 2024

ПРЕДИСЛОВИЕ

Существенным (а ныне – и обязательным) компонентом подготовки специалиста является формирование навыков организации и проведения научно-исследовательской работы. Начало научной жизни многих известных ученых связано со студенческими годами. При этом важно, чтобы студент умел подготовить к публикации результаты своих исследований, поскольку обязательным условием жизни научных идей является их распространение в среде специалистов. На биологическом факультете сформировалась традиция: публикация лучших работ, представленных на конференции.

Процесс изложения результатов своих исследований на бумаге (в виде курсовой или выпускной работы, статьи), как и подготовка доклада, является не менее важным элементом образовательного процесса, чем лекции, лабораторные и практические занятия, семинары. В ходе написания работы происходит процесс осмысления и обобщения понятий и положений, существующих в данной науке. Настоящее понимание сути поставленной задачи, изученности проблемы, научной и практической актуальности и значения своей работы приходит обычно при подготовке доклада, как наиболее концентрированной формы изложения результатов исследования.

В настоящий сборник включены только те материалы, которые были рекомендованы кафедрами. В целом они отражают научную проблематику, в разработке которой принимают участие студенты, специализирующиеся на соответствующих кафедрах вузов г. Перми.

Редакционная коллегия

СЕКЦИЯ «БОТАНИКА, ГЕНЕТИКА И ЭКОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ»

Молекулярно-генетический анализ зерновых сортов озимой тритикале

В.А. Ажимова

ПГНИУ

Научный руководитель – д.б.н., профессор, *С.В. Боронникова*, ПГНИУ

Аннотация: Изучен полиморфизм ДНК трех зерновых сортов озимой тритикале, определены показатели генетического разнообразия и генетической структуры, проведен кластерный анализ и построена дендрограмма для 3 изученных сортов тритикале (*×Triticosecale* Wittm. ex *A. Camus*), выращиваемых в Пермском крае.

Ключевые слова: ISSR-PCR маркеры, генетическое разнообразие, *×Triticosecale* Wittm. ex *A. Camus*

Фундаментальной проблемой в сфере сельского хозяйства, особенно для нашей страны, является повышение зимостойкости основных зерновых культур. Решение данной проблемы позволит значительно повысить урожайность зерна, что будет способствовать обеспечению продовольственной безопасности страны [1]. Отмечено, что озимые культуры хорошо перезимовывают, они имеют более высокую урожайность, так как они полнее используют осадки осеннего периода и весеннюю влагу [2]. Расширение и изучение видового и сортового разнообразия культур является одним из необходимых условий стабилизации зернового производства. К перспективным зерновым культурам относится тритикале озимая – *×Triticosecale* Wittm. ex *A. Camus*. Тритикале может стать мощной основой для качественной кормовой базы животноводства, помимо этого, данная культура прекрасно подходит и для перерабатывающего производства, и для использования в пищевой промышленности [3].

Целью данной работы является изучение генетического разнообразия зерновых сортов озимой тритикале, выращиваемых на опытном поле Пермского НИИСХ – филиала ФГБУН ПФИЦ УрО РАН. Объектами исследования стали три зерновых сорта озимой тритикале: Илия, Цекад 90 и Сибард. Материалом исследований служили образцы фрагментов подфлаговых листьев, собранные с 50 растений каждого сорта,

а также по три повторности в количестве 10 образцов с каждого сорта. Для молекулярно-генетического анализа был использован ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) – метод анализа полиморфизма ДНК [4]. Для ПЦР использованы пять наиболее информативных ISSR- праймеров: X9 – (ACC)₆G, X10 – (AGC)₆C, X11 – (AGC)₆G, ISSR8 – (GAG)₆C и ISSR10 – (ATG)₇C. Эти праймеры показали наибольшую эффективность с ДНК × *Triticosecale* Wittm. ex A. Camus [5].

В трёх зерновых сортах озимой тритикале был выявлен 147 ISSR-PCR маркер, среди которых 36 оказались полиморфными. Доля полиморфных локусов общей выборки низкая ($P_{95} = 0,245$). Этот показатель выше у сорта Цекад 90 ($P_{95} = 0,306$), а ниже – у сорта Илия ($P_{95} = 0,153$). Число выявленных фрагментов ДНК варьировало в зависимости от праймера: от 23 (праймер (GAG)₆C) до 35 (праймеры (AGC)₆C и (ATG)₇C), а их размеры – от 200 до 2950 п.н. Число полиморфных фрагментов ДНК в общей выборке варьировало от 2 до 11, а доля полиморфных локусов в зависимости от ISSR-праймера колебалась от 0,069 (праймер (AGC)₆G) до 0,360 (праймер (ACC)₆G).

Одна из основных мер генетической изменчивости внутри сорта – гетерозиготность. Средняя ожидаемая гетерозиготность (H_E) на общую выборку из трех зерновых сортов озимой тритикале составила 0,227. Этот показатель имеет наибольшее значение у сортов Илия и Сибард ($H_E = 0,089$), а наименьший ($H_E = 0,069$) – у сорта Цекад 90. Абсолютное (n_a) и эффективное (n_e) число аллелей на локус на общую выборку составляет 1,791 и 1,368 соответственно. Эти параметры имеют наибольшие значения для сорта Сибард ($n_a = 1,284$, $n_e = 1,149$), наименьшие – для сорта Цекад 90 ($n_a = 1,254$, $n_e = 1,119$). На общую выборку было обнаружено всего 21 редкий фрагмент: 11 для сорта Илия, 6 для сорта Цекад 90 и 4 для сорта Сибард.

Для описания генетической структуры популяций были также рассчитаны следующие параметры: ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T) на общую выборку равна 0,219; ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_S) для отдельного сорта составила 0,082. Доля межсортового генетического разнообразия в общем разнообразии или показатель подразделенности (G_{ST}) очень высок и равен 0,625.

Для изучения генетических различий сортов были рассчитаны генетические расстояния (D) между тремя зерновыми сортами озимой тритикале. Наиболее генетически удаленными оказались сорта Илия и Цекад 90 ($D = 0,264$), а наиболее близкими сорта Илия и Сибард ($D = 0,248$).

На основании полученных данных о генетическом разнообразии сортов была построена дендрограмма по методу ближайших соседей

(Neighbor-Joining). Она отражает степень генетического сходства исследуемых выборок по ISSR-спектрам (рис.). На дендрограмме сорта Илия и Сибард образуют один кластер, а сорт Цекад 90 представлен отдельной ветвью.

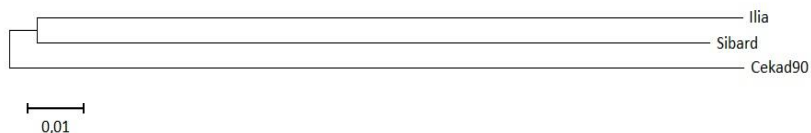


Рисунок – Neighbor-Joining-дендрограмма генетического сходства трех зерновых сортов озимой тритикале; шкала снизу – генетическое расстояние.

Таким образом, изучен генетический полиморфизм трех зерновых сортов озимой тритикале, выращиваемых в Пермском крае. С использованием ISSR-метода определены показатели генетического разнообразия и генетической структуры изученных сортов.

Библиографический список

1. Уткина Е. И. Зимостойкость озимой ржи: проблемы и решения / Е. И. Уткина, Л. И. Кедрова //Аграрная наука Евро-Северо-Востока, 2018. №. 1. С. 11–18.
2. Моисеева К.В. Продуктивность сортов озимой пшеницы // Аграрный вестник Урала. 2017. №9. С. 30–34.
3. Райзер О.Б. Изучение образцов ярового тритикале для создания методами биотехнологии нового исходного материала / О.Б. Райзер, А.Ж. Алжанова, Д.С. Тагиманова, Г.И. Штефан, О.Н. Хапилина // ВЕСТНИК КазНУ, 2014. №1. С. 324–328.
4. Zietkiewicz, E. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. Vol. 20. P. 176–183.
5. Ажимова В.А., Масленникова А.П., Боронникова С.В., Данилова М.А., Майсак Г.П. Подбор эффективных ISSR-праймеров для озимых сортов тритикале // Сборник статей XII Международной конференции ученых-биологов «Симбиоз-Россия 2022». Пермь, 2022. С. 405–408.

Влияние полиморфизма генов на формирование скоростно-силовых качеств единоборцев г. Перми

Н.Н. Бельтюкова, Е.А. Ситникова
ПГНИУ

Аннотация. Для выявления связи между полиморфизмами генов *ACE* и *AMPD1* и формированием скоростно-силовых качеств были изучены аллельные варианты этих генов у группы наблюдения и группы сравнения. Для группы наблюдения использован материал 39 единоборцев в возрасте с 10 до 16 лет, занимающихся дзюдо в МБУ «СШОР по самбо и дзюдо «Витязь» имени И. И. Пономарева» г. Перми. Сбор материала для группы сравнения был проведен среди учащихся МАОУ СОШ №37 Орджоникидзевского района г. Перми в возрасте от 10 до 16 лет, не занимающихся ациклическими видами спорта. Проведен анализ различий между генотипами спортсменов и группы сравнения.

Ключевые слова: полиморфизм, *ACE*, *AMPD1*

В последние годы проводится изучение связей спортивных достижений с генами, опосредующими развитие функций, необходимых для спортивного совершенствования [1]. В современных условиях спорта особую значимость приобретает раннее выявление наиболее одаренных, перспективных спортсменов, успешность которых во многом зависит от того, насколько генетические особенности конкретного спортсмена соответствуют характеру тренировочной и соревновательной деятельности в выбранном виде спорта [2].

В дзюдо наиболее важными характеристиками для спортсменов являются скорость и сила [3]. Для формирования физического качества «скорость-сила» у дзюдоистов важно учитывать полиморфизм генов, отвечающих за регулирование артериального давления и водно-солевого обмена (*ACE* – angiotensin I converting enzyme), а также за особенности развития скелетной мускулатуры (*AMPD1* – adenosine monophosphate deaminase 1). Для изучения полиморфизмов генов *ACE* и *AMPD1* в г. Пермь ранее не проводилось сравнение результатов с контрольной группой в возрасте от 10 до 16 лет.

Цель исследования – определение влияния полиморфизма двух генов *ACE* и *AMPD1* на формирование скоростно-силовых качеств единоборцев г. Перми.

Образцы буккального эпителия из ротовой полости для выделения ДНК были собраны у 39 спортсменов, занимающегося дзюдо в МБУ «СШОР по дзюдо и самбо «Витязь» имени И.И. Пономарева» г. Перми.

Выборка включала 8 лиц женского пола и 31 лицо мужского пола в возрасте от 10 до 16 лет. Сбор материала для группы сравнения был проведен среди учащихся МАОУ СОШ №37 Орджоникидзевского района г. Перми, не занимающихся ациклическими видами спорта. Среди исследуемых 8 лиц женского пола и 31 лицо мужского пола в возрасте от 10 до 16 лет. Все испытуемые были предупреждены об условиях эксперимента и родители несовершеннолетних дали письменное согласие на добровольное участие в нем.

Выделение ДНК проводилось сорбентным методом с помощью набора «Проба ГС» (ООО «ДНК-Технология», Россия). Для проведения молекулярно-генетического анализа двух генов у группы сравнения было выделено 39 проб ДНК. Анализ данных о полиморфизме 2 генов у 39 единоборцев был проведен ранее в лаборатории генетических и геномных технологий кафедры ботаники и генетики растений ПГНИУ [4]. Для амплификации полиморфных локусов генов *ACE* и *AMPD1* использовали методики из литературных источников [5,6]. Дополнительно для гена *AMPD1* проводилась рестрикция амплифицируемых фрагментов ДНК с использованием рестриктазы BstDEI («НПО СибЭнзим», Россия). Продукты рестрикции полиморфных позиций двух анализируемых генов *ACE* и *AMPD1* фракционировали при помощи электрофореза в 2 % агарозном геле с окраской бромистым этидием и фотографированием в системе гель-документации GelDoc XR в проходящем ультрафиолетовом свете. Определение длин фрагментов ДНК проводилось при помощи программы Quantity One 4.6.2 («Bio-Rad», USA) с использованием маркера молекулярной массы (50 bp DNA Ladder).

Результат молекулярно-генетического анализа частоты генотипов гена *ACE* в исследуемых выборках дзюдоистов школы «Витязь» г. Перми и учащихся МАОУ СОШ №37 г. Перми показал, что чаще всего в группе наблюдения встречается благоприятный для развития и проявления скоростно-силовых качеств генотип D/D (0,56), в то время как в группе сравнения незначительно преобладает генотип I/I (0,39).

Анализ частот генотипов и аллелей гена *ACE* у группы спортсменов по сравнению с контрольной группой показал достоверное различие по частоте аллелей I ($F_{оп} 2,43 > 1,96$ при $p = 0,05$) и D ($F_{оп} 2,43 > 1,96$ при $p = 0,05$); а также достоверное различие по благоприятному для развития скорости и силы генотипу D/D ($F_{оп} 2,31 > 1,96$ при $p = 0,05$). По остальным генотипам подтверждены незначимые различия.

Результат молекулярно-генетического анализа частоты генотипов гена *AMPD1* показал, что с наибольшей частотой в исследуемых выборках встречался генотип C/C. В группе наблюдения частота данного генотипа составила 0,82, в группе сравнения – 0,77.

Анализ частот генотипов и аллелей гена *AMPD1* у группы спортсменов при сопоставлении с группой сравнения не показал значимых различий при анализе частот аллеля С ($F_{\text{оп}} 0,02 < 1,96$ при $p = 0,05$) и аллеля Т ($F_{\text{оп}} 0,07 < 1,96$ при $p = 0,05$). При оценке распределения частот генотипов исследуемого гена не было обнаружено различий у генотипа С/Т ($F_{\text{оп}} 0 < 1,96$ при $p = 0,05$) между сравниваемыми группами. Выявлены незначимые различия благоприятного для проявления скоростно-силовых качеств генотипа С/С ($F_{\text{оп}} 0,03 < 1,96$ при $p = 0,05$).

Установлено, что генотип D/D гена *ACE* может быть использован в качестве маркера, указывающего на предрасположенность к развитию скоростно-силовых качеств у дзюдоистов.

Библиографический список

1. Аль-Обади И. С., Смоленский А. В. Генные маркеры как предикторы внезапной сердечной смерти в спорте // Российский кардиологический журнал. – 2007. – № 1. – С. 57-61.
2. Лебедь Т. Л., Мельнов С. Б. Молекулярно-генетическое типирование полиморфизмов: генетический прогноз антропометрических характеристик спортсменов-гребцов: методические рекомендации. – 2016.
3. Ленц А.Н. Научно-методические основы подготовки квалифицированных борцов. Москва, 1972. 33 с.
4. Vostrikova, A.; Pechenkina, V.; Danilova, M.; Boronnikova, S.; Kalendar, R. Gene Polymorphism and Total Genetic Score in Martial Arts Athletes with Different Athletic Qualifications. *Genes* 2022, 13, 1677.
5. Ведяков А.М., Лидов П.И., Гаврилов Д.А., Табалян Е.А., Тоневский А.Г. Анализ полиморфизма генов *ACE* и *BDKRB2* у спортсменов // Вестник спортивной науки. 2006. №1. С. 23-27.
6. Rubio J.C. Frequency of the C34T mutation of the *AMPD1* gene in world-class endurance athletes: does this mutation impair performance? / J.C. Rubio, M.A. Martin, M. Rabadan // *J. Appl. Physiol*, 2005. Vol. 98. P. 2108–2112.

Молекулярно-генетический анализ популяций *Picea obovata* Ledeb. в Пермском крае

Е.А. Ваганова

ПГНИУ

Научный руководитель – д-р биол. наук, проф. **С.В. Боронникова**,
ПГНИУ

Аннотация. Проведен молекулярно-генетический анализ с использованием ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК четырех популяций *Picea obovata* Ledeb. из Пермского края. Установлены высокие показатели генетического разнообразия и генетической дифференциации исследуемых популяций.

Ключевые слова: фрагменты ДНК, генетическое разнообразие, популяция, ель сибирская.

Изучение генетического разнообразия и внутривидовой дифференциации хвойных растений играет важную биосферную роль и является важной задачей популяционной биологии. Изучение характера распределения генетического разнообразия и дифференциации популяций *P. obovata* в различных частях ареала этого вида даст возможность не только оценить генетический потенциал вида в целом, но и получить более объективную информацию о характере формирования генетической структуры *P. obovata* [1]. На основании точных оценок уровней генетической изменчивости и характера ее распределения в пределах ареалов видов могут быть разработаны мероприятия, направленные на максимальное сохранение генетического разнообразия и популяционной структуры видов в процессе их использования и воспроизводства [2]. Ель сибирская (*P. obovata*) является широко распространённым древесным растением на территории Пермского края и других регионов РФ. Территория Пермского края входит в зону интрогрессивной гибридизации видов рода *Picea* [3].

Целью данной работы является определение генетического разнообразия и генетической структуры четырех популяций *P. obovata* Пермского края.

Объектами исследований являлись четыре популяции *P. obovata* из Гайнского, Красновишерского, Березниковского и Сивинского лесни-

честв Пермского края. Для молекулярно-генетического анализа был использован ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) – метод анализа полиморфизма ДНК [4].

Для ПЦР были использованы пять наиболее информативных ISSR-праймеров для ели сибирской (M1 – (AC)₈CG; CR-212 – (CT)₈TG; CR-215 – (CA)₆GT; X9 – (ACC)₆G и X10 – (AGC)₆C), с заменой праймера M3 на CR-212 [5].

При молекулярно-генетическом анализе четырех популяций ели сибирской выявлено 106 фрагментов ДНК, из которых 83 были полиморфными ($P_{95}=0,783$). Наибольшее число полиморфных локусов отмечены в популяции Березниковского лесничества – 64 ($P_{95}=0,604$), наименьшее в Сивинском лесничестве – 50 ($P_{95}=0,472$).

Число фрагментов ДНК в четырех популяциях *P. obovata* варьировало в зависимости от праймера от 14 (праймер X10) до 28 (праймер M1), а их размеры – от 160 до 3000 п.н. Наибольшее генетическое разнообразие наблюдается в популяции из Березниковского лесничества, так как установлены наибольшие значения ожидаемой гетерозиготности ($H_E=0,145$), эффективное число аллелей на локус ($n_e=1,269$) и число редких фрагментов ($R=6$).

Наименьшая ожидаемая гетерозиготность отмечена в популяции Сивинского лесничества ($H_E=0,140$), наименьшее эффективное число аллелей на локус в популяции из Красновишерского лесничества ($n_e=1,229$), число редких фрагментов наименьшее ($R=2$) – в популяции Гайнского лесничества.

Таблица

Генетическая структура и дифференциация четырех популяций
P. obovata

ISSR-праймер	Нуклеотидная последовательность (5'→3')	H_T	H_S	G_{ST}
CR-215	(CA) ₆ GT	0,239 (0,029)	0,159 (0,016)	0,335
X10	(AGC) ₆ C	0,196 (0,033)	0,118 (0,012)	0,401
X9	(ACC) ₆ G	0,241 (0,028)	0,164 (0,019)	0,321
M1	(AC) ₈ CG	0,243 (0,028)	0,173 (0,164)	0,286
CR-212	(AGC) ₆ C	0,176 (0,026)	0,124 (0,008)	0,298
Среднее		0,239 (0,029)	0,159 (0,016)	0,335

Примечание: H_T – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в общей выборке; H_S – ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной популяции; G_{ST} – показатель подразделенности популяций; в скобках даны стандартные отклонения

Анализ генетической структуры четырех популяций *P. obovata* показал (табл.), что ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в общей выборке (H_T) составила 0,239, ожидаемая доля гетерозиготных генотипов в отдельной популяции (H_S) равна 0,159.

Доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии или показатель подразделенности популяций (G_{st}) составил 0,335. Итак, третья часть генетического разнообразия (33,5%) приходится на межпопуляционную компоненту, то есть изученные популяции сильно дифференцированы.

На основании проведенного ISSR-анализа генетического полиморфизма *P. obovata* характеризуются высокими показателями генетического разнообразия ($P_{95}=0,924$; $H_e=0,139$; $n_e=1,224$; $R=7$). Результаты данного исследования важны для изучения интрогрессивной гибридизации видов рода *Picea*, а также для разработки рекомендаций по сохранению генофондов четырех популяций ели сибирской в Пермском крае.

Библиографический список

1. Кравченко А.Н., Ларионова А.Я., Экарт А.К. Генетическое разнообразие и структура уникальных популяций ели сибирской по данным изоферментного и микросателлитного анализов // Плодоводство, семеноводство, интродукция древесных растений. – 2019. – Т.22. – С. 87-90.
2. Рогозин М.В., Голиков А.М., Жекин А.В., Комаров С.С., Жекина Н.В; под общ. ред. Рогозина М.В. Селекция ели финской (*Picea x fennica* (Regel) Kom.): диссимметрия и хемомаркеры. – Пермь, 2017. – С. 7-84.
3. Экарт А.К., Семерикова С.А., Семериков В.Л, Кравченко А.Н., Дамшакова О.С., Ларионова А.Я. Применение различных типов генетических маркеров для оценки уровня внутривидовой дифференциации ели сибирской // Сибирский лесной журнал. 2014. № 4. С. 84-91.
4. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. Vol. 20. P. 176-183.
5. Нечаяева Ю.С., Боронникова С.В., Пришневская Я.В. Молекулярно-генетический анализ некоторых хвойных видов растений в Пермском крае// Евразийский союз учёных. – 2014. – С. 114-116.

Эколого-генетический анализ озимых сортов (*Secale cereal L.*)

А.И. Вишкова¹, Н.Н. Бельтюкова¹, К.А. Марон^{2,3}, И.А. Тарбеев¹,
В.А. Печенкина¹

¹ПГНИУ

²Пермский НИИСХ – филиал ПФИЦ УрО РАН

³Уральский НИИСХ – филиал ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН

Аннотация. Пермский край и Свердловская область входят в состав Волго-вятского региона, который относится к зоне рискованного земледелия. Правильно подобранные сорта *S. cereale* – важный критерий для эффективного использования природных условий регионов страны. При помощи 5 ISSR-праймеров был проведен молекулярно-генетический анализ 240 образцов четырех сортов (Алиса, Ника, Паром, Янтарная) озимой ржи, выращенной на опытных полях Уральского НИИСХ и Пермского НИИСХ, кроме того, были изучены основные показатели сортов озимой ржи (урожайность, зимостойкость) и агро-климатические показатели.

Ключевые слова: озимая рожь, климатические условия, ISSR.

Озимую рожь относят к стратегическим сельскохозяйственным культурам, поскольку она имеет высокие адаптационные способности, стабильна в получении урожая зерна, имеет высокую агротехническую значимость. Озимая рожь подвергается воздействию ряда абиотических стрессоров, одними из которых являются резкие колебания температур и количество осадков [2]. В связи с чем, была определена температура и влажность по месяцам за вегетационный период озимой ржи с 2021 г. по 2022 г. Средние значения температуры за вегетационный период озимой ржи в Перми (село Лобаново) и Екатеринбурге не имели значительных отличий и были на уровне $4,7 \pm 11,51^\circ\text{C}$. Значения гидротермического коэффициента (ГТК) за вегетационный период составили 0,9 для Перми (село Лобаново) и 0,6 для Екатеринбурга. Что характеризует погодные условия вегетационного периода озимой ржи как засушливые и неблагоприятные для возделывания озимой ржи ($\text{ГТК} \leq 1,0$) [2].

Анализ урожайности, высоты стеблестоя, кустистости, массы 1000 зерен, зимостойкости показал, что все показатели кроме кустистости были выше у сортов на опытном поле Уральского НИИСХ. В среднем урожайность сортов составляла 4,3 т/га на опытном поле Пермского НИИСХ и

6,4 т/га на опытном поле Уральского НИИСХ. Полученные результаты выше среднеемноголетних данных по изучаемым сортам (32,2 г.) [3].

Продуктивная кустистость на опытном поле Пермского НИИСХ между сортами имела незначительные отличия и в среднем составляла 11,4 шт./раст. На опытном поле Уральского НИИСХ наибольший показатель продуктивной кустистости наблюдался у сорта Янтарная (12,0 шт./раст.), остальные сорта показали значения продуктивной кустистости почти в два раза меньше значений сортов на опытном поле Пермского НИИСХ.

По зимостойкости в Пермском крае все, исследуемые сорта набрали 4 балла, что означает, что их зимостойкость ниже среднего. В Свердловской области зимостойкость варьировала от 5 (средняя зимостойкость) баллов до 1 (крайне низкой зимостойкости) балл [4].

Таблица 1
Основные показатели испытываемых сортов *Secale cereale* L. за 2022 год

Сорт, гибрид, вариант	Урожайность, т/га		Высота стеблелестоя, см.		Кустистость, шт./раст.		Масса 1000 зерен, г		Зимостойкость, балл	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Алиса	4,7	6,5	150	155	11,4	5,9	32,7	40,3	4	3
Ника	4,7	6,1	140	142	11,5	6,8	38,7	33,8	4	5
Паром	4,1	6,2	142	155	11,4	6,2	32,2	37,7	4	5
Янтарная	3,7	6,6	146	152	11,2	12,0	35,9	37,7	4	1

Примечание: 1 – опытное поле Пермского НИИСХ; 2 – опытное поле Уральского НИИСХ

В результате того, что наблюдалась затяжная весна и первый летний месяц характеризовался избыточным увлажнением как в Перми (село Лобаново), так и в Екатеринбурге, возникли условия, позволившие озимой ржи на опытном поле Уральского НИИСХ восстановиться после осеннего (осенью недостаток влаги в Екатеринбурге оказал отрицательное воздействие на кущение) и зимнего периодов, и сформировать высокую массу 1000 зёрен.

Для молекулярно-генетического анализа *S. cereale* наиболее информативными оказались четыре динуклеотидных ISSR-праймера (M1 (AC)8CG, ISSR-5 (AG)8CA, CR-215 (CT)6TG, CR-218 (GA)6CC) и один тринуклеотидный ISSR-праймер X10 (AGC)6C. Генетическое разнообразие изученных сортов *S. cereale* в Пермском крае характеризуется более высокими показателями ($P_{95} - 0,625$, $H_E - 0,259$), чем в Свердловской области ($P_{95} - 0,423$, $H_E - 0,158$).

Для кластерного анализа использовали метод UPGMA с помощью программы Treecon 3.1 с применением 100 реплик бутстрепа (рис. 1).

На дендрограмме, отображающей генетическую дивергентность проанализированных сортов ржи озимой Уральской селекции можно заметить, что генотипы разделились в два кластера, согласно их территориальной принадлежности. Первый из них объединяет сорта, выращиваемые на опытном поле Уральского НИИСХ. Второй сформирован сортами с опытного поля Пермского НИИСХ. Узлы ветвления имеют высокую поддержку (индекс бутстрепа >50%).

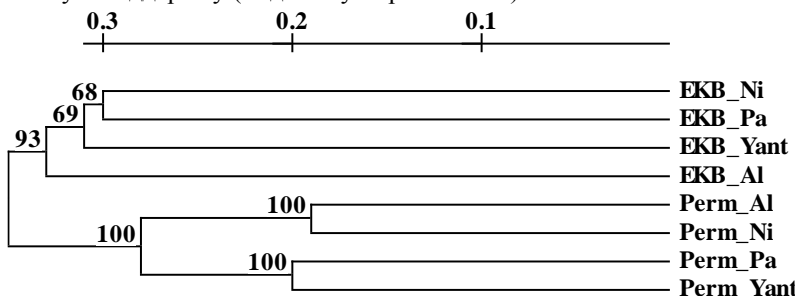


Рис. 1. UPGMA-дендрограмма генетического сходства сортов *S. cereale* опытных полей Уральского НИИСХ и Пермского НИИСХ, построенная на основании полиморфизма ISSR-маркеров; шкала сверху – генетическое расстояние; указаны значения бутстрепа (в %)

Сорта озимой ржи на опытном поле Уральского НИИСХ выращивались на светло-серой лесной тяжелосуглинистой почве, в то время на опытном поле Пермского НИИСХ почва дерново-подзолистая среднесуглинистая [5].

Таким образом, изученные сорта ржи *S. cereale* (Алиса, Ника, Паром, Янтарная) характеризуются более высокими показателями урожайности в Свердловской области, зимостойкость сортов в обоих регионах была ниже среднего. Генетическое разнообразие изученных сортов *S. cereale* в Пермском крае характеризуется более высокими показателями, чем в Свердловской области.

Библиографический список

1. Лукаткин А. С., Лукаткин А. А. Повышение устойчивости сельскохозяйственных растений к абиотическим стрессорам обработкой экзогенными регуляторами роста //Агрехимикаты в XXI веке: теория и практика применения. 2017. С. 67-70.
2. Толстопятова О. С. Меняющиеся климатические условия и урожайность агроценозов Белгородской области : Магистерская диссертация / О. С. Толстопятова, науч. рук. М. Г. Лебедева. Белгород, 2016. 78 с.

3. Потапова Г. Н., Галимов К. А., Зобнина Н. Л. Продуктивность и адаптивность сортов озимой ржи на Среднем Урале // Достижения науки и техники АПК. 2020. №10.

4. Кобылянский В. и др. Международный классификатор СЭВ, рода *Secale L* //Л.: ВИР. 1984.

5. Смирнова И. Ю. Визуально-ландшафтная характеристика парков г. Екатеринбург : дис. УГЛТУ, 2016.

Оценка влияния генотипов на формирование скоростно-силовых качеств дзюдоистов с использованием общего генетического балла

Е.И. Гребёнкина

ПГНИУ

Научный руководитель – д.б.н., профессор, *С.В. Боронникова*, ПГНИУ

Аннотация. Проведён анализ полиморфизма генов *BDKRB2*, *AMPD1* у дзюдоистов и группы сравнения. Генетическая предрасположенность формирования скоростно-силовых качеств оценена с помощью метода расчета «общего генетического балла». Выявлены маркерные генотипы для выявления генетической предрасположенности дзюдоистов в возрасте от 8 до 16 лет.

Ключевые слова: ДНК; полиморфизм генов; генотипирование; спортсмены-единоборцы, общий генетический балл

Индивидуальные различия в степени развития физических качеств во многом обусловлены ДНК-полиморфизмами. Результаты молекулярно-генетических исследований в области спорта открыли новые возможности в разработке и применении диагностических комплексов, направленных на решение проблем медико-генетического отбора в спорте, а также на корректировку тренировочного процесса, обеспечивающую наиболее высокие показатели в данном виде спорта [1]. Влияние аллельных вариантов ряда генов у единоборцев на спортивную квалификацию и длительность занятия спортом изучено у каратистов [2], у групп смешанных единоборств [3], у самбистов [4]. Ранее не изучалось влияние полиморфизмов генов на развитие скоростно-силовых качеств у дзюдоистов в возрасте от 8 до 16 лет, а именно не проводилось сопоставление с группой сравнения школьников того же возраста.

Целью данной работы является определение влияния полиморфизмов генов на развитие скоростно-силовых качеств дзюдоистов с использованием общего генетического балла у группы дзюдоистов и у группы сравнения в возрасте с 8 до 16 лет.

Исследование проводилось у группы наблюдения, которая включает 65 дзюдоистов в возрасте с 8 до 16 лет из МБУ «Спортивная школа олимпийского резерва по самбо и дзюдо «Витязь» имени И.И. Пономарева». Результаты генотипирования предоставлены лабораторией генетических и геномных технологий кафедры ботаники и генетики растений [5]. Группа сравнения включает 65 школьников в возрасте с 8 до 16 лет из школ Кировского, Индустриального и Свердловского района города Перми, не занимающиеся профессионально спортом, в том числе единоборствами.

Материалом для молекулярно-генетического анализа служили пробы буккального эпителия, ДНК выделялась с помощью комплекта реагентов «Проба-ГС». Амплификация фрагментов ДНК проводилась с помощью ПЦР. Для выявления полиморфизма С34Т гена *AMPD1* продукты ПЦР дополнительно инкубировали вместе с эндонуклеазами рестрикции. Продукты амплификации были фракционированы методом электрофореза в 2-3% агарозном геле. Родители (законные представители) всех несовершеннолетних испытуемых дали письменное согласие на добровольное участие в эксперименте.

При анализе полиморфизма генов *BDKRB2*, *AMPD1* у дзюдоистов установлено, что генотип +9/+9 гена *BDKRB2* и генотип С/С гена *AMPD1*, являются самыми распространёнными, встречаются с частотой 0,79 и 0,82 соответственно. Самые неблагоприятные генотипы для формирования качества «скорость/сила» -9/-9 и Т/Т в выборке не были обнаружены. Отсутствие генотипа Т/Т в выборке дзюдоистов подтверждает, что этот генотип неблагоприятен для формирования качества «скорость/сила».

Анализ аллельных вариантов гена *BDKRB2*, *AMPD1* у группы сравнения показал, что самыми распространёнными генотипами являются +9/+9 и С/С, которые наблюдаются с частотой 0,57 и 0,80 соответственно. Самый же неблагоприятный генотип для формирования скоростно-силовых качеств гена *BDKRB2* -9/-9 в выборке не был обнаружен. Самый неблагоприятный генотип гена *AMPD1* для формирования качества «скорость/сила» Т/Т был обнаружен только у 2 испытуемых в выборке.

При сравнении частот генов *BDKRB2*, *AMPD1* у группы дзюдоистов и группы сравнения установлено, что отличия значимы только для генотипа +9/+9 гена *BDKRB2*, то есть генотип +9/+9 является маркерным

для развития скоростно-силовых качеств у дзюдоистов в возрасте от 8 до 16 лет.

Оценка генетической предрасположенности к развитию скоростно-силовых качеств на основании ОГБ выявила, что у группы дзюдоистов и группы сравнения отличия значимы ($F_{оп} 2,30 > 1,96$ при $p=0,05$) для ОГБ от 76 до 100 баллов (табл.). Дзюдоистов с ОГБ 25 и 0 не было обнаружено в исследуемой выборке, что указывает на отсеивание людей с неблагоприятными генотипами в процессе отбора.

Таблица

ОГБ группы дзюдоистов и группы сравнения

Общий генетический балл	Частота ОГБ в группе дзюдоистов	Частота ОГБ в группе сравнения	$F_{оп} < F_{st}$
76-100	0,65	0,45	$2,30 > 1,96$
51-75	0,34	0,45	$1,29 < 1,96$
26-50	0,02	0,08	$1,65 < 1,96$
0-25	0	0,03	-

Примечание: ОГБ – общий генетический балл; $F_{оп}$ – F-критерий Фишера. F_{st} -критерий Фишера стандартный равен 1,96 (при $p = 0,05$)

Результаты проведённого исследования необходимы для разработки рекомендаций по коррективке учебно-тренировочного процесса дзюдоистов в возрасте от 8 до 16 лет. Рекомендации важны для подбора оптимального вида спортивной деятельности, в котором существует высокая вероятность достижения хороших результатов, без риска развития вреда здоровью.

Библиографический список

1. Витун Е.В., Витун В.Г. Анализ предрасположенности к определенному виду спорта у студентов на основе спортивной генетики // Бизнес. Образование. Право. 2020. №4. С. 472–476.
2. Гаврикова Е.П. Влияние полиморфных вариантов генов на результат спортсменов, занимающихся карате // Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии: материалы регион. мол. конф. Пермь, 2016. С. 5–7.
3. Kikuchi N. Higher Frequency of the ACTN3 R Allele and ACE D/D Genotype in Japanese Elite Wrestlers / N. Kikuchi, S. Min, D. Ueda, S. Igawa, K. Nakazato // Journal of Strength and Conditioning Research. 2012. Vol. 26. P. 3275–3280.

4. Бурлуцкая М.Ю. Влияние полиморфных вариантов генов на физические качества и результаты спортсменов, занимающихся единоборствами // Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии: материалы регион. молод. конф. Пермь, 2018. С. 76.

5. Vostrikova, A.; Pechenkina, V.; Danilova, M.; Boronnikova, S.; Kalendar, R. Gene Polymorphism and Total Genetic Score in Martial Arts Athletes with Different Athletic Qualifications // Genes. 2022. Vol. 13. P.1677.

Генетическое тестирование вирусных гепатитов *B* и *C*

Л.К. Жуланова¹, А.В. Шилова²

¹ПГНИУ

²Филиал ООО «Централизованная клинико-диагностическая лаборатория» в Пермском крае

Научный руководитель бакалавра Л.К. Жулановой – д.б.н., профессор **С.В. Боронникова**, ПГНИУ

Аннотация. Проведено исследование проб крови 173 пациентов на наличие вируса гепатита *B*, вируса гепатита *C*, а также генотипов и субтипов вируса гепатита *C*. При качественном определении вирус гепатита *B* был выявлен в крови 8 пациентов, а вирус гепатита *C* – 33 пациентов. При количественном определении у большинства пациентов концентрация нуклеиновой кислоты вируса гепатита *B* находилась на минимальном значении (менее 20 МЕ/мл), вируса гепатита *C* – находилась на низком значении (ниже 8×10^5 МЕ/мл). Наиболее распространённым (38,78%) субтипом вируса гепатита *C* оказался 1b, его наличие подтвердилось в крови у 19 пациентов.

Ключевые слова: вирусные гепатиты *B* и *C*, субтипы и генотипы вируса *C*.

По оценкам ВОЗ в мире насчитывается 325 млн человек (3-4% населения планеты), которые болеют гепатитом *B* и/или *C* [1]. В России в 2021 году заболеваемость гепатитом *B* составила, с учетом острой и хронической форм болезни, 4,81 на 100 тыс. населения, гепатитом *C* – 16,89 на 100 тыс. населения [2]. Вирусные гепатиты – это группа наиболее частых заболеваний, которые могут привести к летальному исходу в виде фиброза, цирроза печени или рака печени. Одними из опаснейших

возбудителей данных болезней являются ДНК-содержащий вирус гепатита *B* и РНК-содержащий вирус гепатита *C* [3, 4].

Целью данного исследования являлось определение вирусов гепатитов *B* и *C* в пробах крови пациентов в филиале ООО «Централизованная клиничко-диагностическая лаборатория» в Пермском крае (ЦКДЛ).

Материалом служили пробы плазмы крови, взятые в период с 3 июня 2022 года по 17 марта 2023 года, у 173 пациентов (85 мужчин, 86 женщин, у двух пациентов пол был не указан) из 3 медицинских учреждений: ГБУЗ Пермского края «Осинская Центральная районная больница», ГБУЗ Пермского края «Кишертская Центральная районная больница», ГАУЗ Свердловской области «Камышловская Центральная районная больница». Возраст пациентов варьировался от 1 года до 83 лет, а средний возраст пациентов составил $48,92 \pm 14,95$ лет.

Выделение нуклеиновых кислот вирусов (ДНК – в случае вируса гепатита *B*, РНК – в случае вируса гепатита *C*) проводилось при помощи набора реагентов «РИБО-преп» торговой марки «ApliSens» (ООО «Компания Хеликон», Россия) на базе ЦКДЛ г. Перми. Пробоподготовка для выявления вируса гепатита *C* включала обратную транскрипцию (ОТ) с использованием соответствующих наборов реагентов для каждого типа определения: «ОТ-ГЕПАТОГЕН-С», «ОТ-ГЕПАТОГЕН-С количественный», «ОТ-ГЕПАТОГЕН-С ГЕНОТИП» (ООО «ДНК-Технология», Россия). ПЦР в реальном времени проводилась с применением «горячего старта» с использованием детектирующего амплификатора «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) для определения вируса гепатита *B* с применением наборов реактивов «ВГБ-ГЕН» и «ГЕПАТОГЕН-Б количественный» (ООО «ДНК-Технология», Россия), а для определения вируса гепатита *C* – наборов реактивов «ОТ-ГЕПАТОГЕН-С», «ОТ-ГЕПАТОГЕН-С количественный», «ОТ-ГЕПАТОГЕН-С ГЕНОТИП» (ООО «ДНК-Технология», Россия). Амплификацию проводили согласно программе для каждого анализа, рекомендованную производителем. Детекция продуктов (искомой ДНК и кДНК) проводилась при помощи флуоресцентного красителя *FAM* (длина волны флуоресценции 520 нм).

Из 173 пациентов у 29 пробы крови исследовались на качественное определение вируса гепатита *B*. ДНК вируса в крови не была обнаружена у 21 пациента (72,41%). У 93 пациентов в пробах крови было проведено качественное определение вируса гепатита *C*. У 60 пациентов (64,52%) в пробах крови не обнаружена вирусная РНК, то есть они были здоровы.

Количественное определение вируса гепатита *B* было проведено в пробах крови у 15 пациентов. Результаты показали, что у большей части, 9 человек (60%), концентрация вирусной ДНК составила пограничное значение чувствительности тест-системы, то есть было менее 20 МЕ/мл (МЕ – международная единица, равная 5 копий ДНК). Высокий уровень концентрации вирусной ДНК (выше 2×10^3 МЕ/мл) был выявлен только у 2 пациентов (13,33%). У 26 пациентов (48,08%) из 52 концентрация РНК вируса гепатита *C* была невелика и составляла ниже 8×10^5 МЕ/мл (МЕ – международная единица, равная 4 копий РНК). Высокая концентрация вирусной РНК (выше 8×10^5 МЕ/мл) отмечалась только у 11 пациентов (23,08%).

В результате генотипического определения было установлено, что у большинства пациентов с подтверждённым наличием вирусной РНК в крови (33 из 49 пациентов) распространён субтип 1b генотипа 1 вируса гепатита *C*. Данный генотип выявился у 19 человек, что составляет 38,78% от общего числа пациентов. На втором месте по распространённости был субтип 3a (9 человек или 18,37%). Субтип 1a был выявлен только у 4 пациентов (8,16%). Наименее распространённым был генотип 2 (1 человек – 2,00%). Данное распределение генотипов и субтипов вируса оказалось типичным как для большей доли территории России, так и для всего мира [5].

Таким образом, при исследовании проб крови 173 пациентов было определено наличие или отсутствие нуклеиновых кислот вирусов гепатита *B* и *C* с использованием метода ПЦР в реальном времени. При качественном определении вируса гепатита *B* в крови только у 27,59% пациентов установили наличие вирусной ДНК. При качественном тестировании на наличие РНК вируса гепатита *C* у 35,48% пациентов пробы крови дали «положительный» результат. При генотипическом тестировании установлено преобладание субтипа 1b (38,78%) вируса гепатита *C*. Полученные нами результаты очень важны для характеристики распространённости вирусных гепатитов в Пермском крае и Свердловской области.

Библиографический список

1. Гепатит // Всемирная организация здравоохранения. URL: https://www.who.int/ru/health-topics/hepatitis#tab=tab_1. (дата обращения: 04.10.2022)
2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 году: государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 2022. 340 с.

3. Полянина А.В., Быстрова Т.Н. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика вируса гепатита *B* в условиях массовой вакцинопрофилактики (аналитический обзор) // Медиаль. 2019. №2. С. 10–39.

4. Быстрова Т.Н., Михайлова Ю.В. Молекулярно-генетическая характеристика вируса гепатита *C* (аналитический обзор) // Медиаль. 2014. №2. С. 88–102.

5. Жебрун А.Б., Калинина О.В. Вирусный гепатит *C*: эволюция эпидемического процесса, эволюция вируса // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2016. №1. С. 102–112.

Некоторые биологические особенности *G. murielae* Kelway & Langport ex hort. и *G. dalenii* subsp. *dalenii* Van Gell в условиях интродукции в Пермском крае

Ж.А. Кинёва, С.А. Шумихин
ПГНИУ

Аннотация. В 2022г. проведено интродукционное изучение двух видов гладиолуса: *G. murielae* Kelway & Langport ex hort. и *G. dalenii* subsp. *dalenii* Van Gell. Выявлены отличия по основным морфобиологическим характеристикам в сравнении с ранее полученными данными. Изученные виды в среднем зацветают через 60-64 дня после высадки и перспективны для интродукции в Пермском крае. Сроки цветения данных видов можно регулировать сроками посадки клубнелуковиц. Они могут быть использованы в декоративном цветоводстве и включены в селекционные программы в качестве источников декоративных и адаптивных признаков.

Ключевые слова: гладиолус, Пермский край, *G. murielae*, *G. dalenii* subsp. *dalenii*.

Среди редко встречающихся в культуре центрально-африканских видов рода гладиолус перспективными для интродукции в условиях Средней полосы России считаются *Gladiolus murielae* Kelway & Langport ex hort. и *G. dalenii* subsp. *dalenii* Van Gell. Они являются донорами ценных декоративных и адаптивных признаков, таких как аромат и устойчивость к болезням. Однако, для использования в декоративном цветоводстве и в селекционных программах необходимо интродукционное изучение их биоморфологических и фенологических особенностей в условиях конкретного региона выращивания.

Исследование проводилось на базе Учебного Ботанического сада им. А.Г. Генкеля ПГНИУ. В качестве материала были использованы два вида рода *Gladiolus* L.: *G. murielae*, семена которого были получены в 2002 г. из Института биологии Берлинского университета им. Гумбольдта (Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Biologie, Berlin, Germany) и *G. dalenii subsp. dalenii*, семена которого были получены в 2004 г. из Ботанического сада г. Нант (Nantes Jardin Botanique, France).

При интродукционном изучении были описаны фенологические показатели (срок зацветания, продолжительность цветения вида) по методическим рекомендациям Р.А. Карписоновой [1] и морфобиологические характеристики (высота растения, количество цветков в соцветии, количество одновременно открытых цветков) согласно методическим рекомендациям И.Ф. Сацыперовой, А.М. Рабиновича [2]. В ходе исследования осуществлялось сравнение собственных данных за 2022 г. с ранее полученными в 2014-2016 гг. [3].

Родиной *G. murielae* и *G. dalenii subsp. dalenii* являются центральные районы Африки [4]. В условиях Пермского края эти виды относятся к группе летне-осеннецветущих геофитов с длительной весенне-летней вегетацией, не зимующих в грунте [3]. В естественных условиях *G. murielae* цветет в январе-марте или июле-сентябре [4], тогда как при посадке клубнелуковиц 15 мая в Пермском крае цветение наступало в 2016 г. через 55 дней (8 июля), в 2015 г. через 62 дня (15 июля), в 2014 г. через 70 дней (23 июля) после посадки [3]. При посадке клубнелуковиц *G. murielae* 1 июня 2022 г. цветение наступило через 72 дня (12 августа). В среднем цветение у этого вида по многолетним данным в Пермском крае наступает через $64,75 \pm 3,02$ дня (Рис. 1).

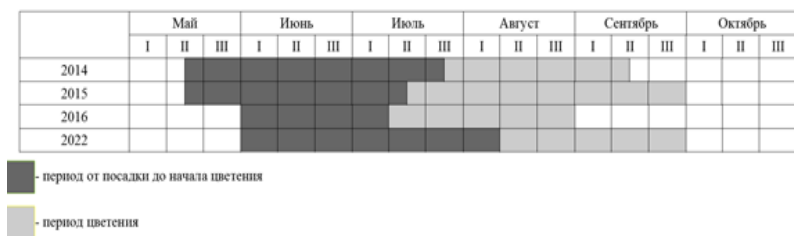


Рис. 1. Сезонный феноспектр развития *G. murielae* в Пермском крае

G. dalenii subsp. dalenii в естественных условиях цветет в мае-сентябре [4], тогда как в условиях Пермского края его цветение наступало в 2016 г. через 50 дней (3 июля), в 2015 г. через 55 дней (8 июля), в 2014 г. через 70 дней (23 июля) после посадки [3]. При посадке клубнелуковиц 1 июня 2022 г. цветение наступило через 68 дней (8 августа). В среднем цветение это вида в условиях Пермского края наступает через $60,75 \pm 3,79$ дней (Рис. 2).

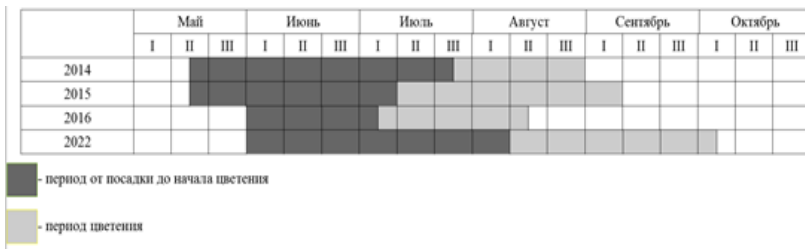


Рис. 2. Сезонный феноспектр развития *G. dalenii subsp. dalenii* в Пермском крае

Период наступления цветения, вероятно, определяется не только сроками высадки клубнелуковиц, но и суммой температур с момента посадки. Первым цветение наступает у *G. dalenii subsp. dalenii* при сумме температур 966°C -1247°C, затем *G. murielae* при сумме температур 1086°C – 1336°C (рис. 3). Однако в 2014 г. оба вида зацвели одновременно, через 70 дней после посадки, при сумме температур 927°C. Для определения более точной зависимости необходимы дополнительные исследования.

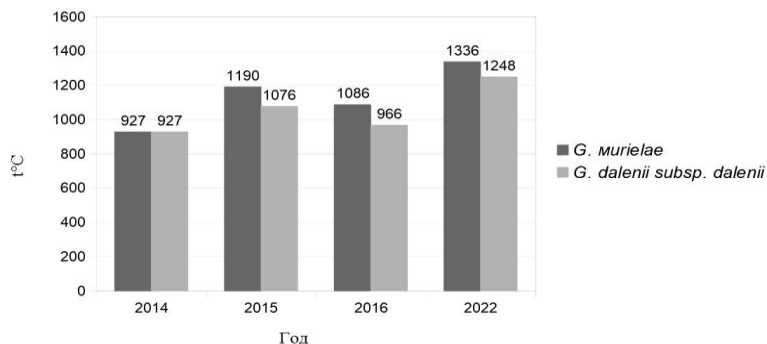


Рис. 3. Суммы температур от посадки до начала цветения *G. murielae* Kelway & Langport ex hort. и *G. dalenii subsp. dalenii* Van Gell в 2014-2016 гг. и в 2022г.

Высота растений *G. murielae* в 2022 г. составляла 80-100 см, что совпадает с ранее полученными данными [3], но значительно отличается от 30-65 см указанных в литературе [5]. *G. dalenii subsp. dalenii* в 2022г.

при высоте растений 93-116 см оказался более высокорослым по сравнению с ранее полученными данными (50-70 см) в 2014-2016 гг. [3] и приблизился к 70-120 см указанным в литературе [5].

В 2022 г. в соцветии *G. murielae* формировалось от 8 до 12 цветков, что значительно больше по сравнению с 4-9 цветками по данным, полученным ранее [3]. В соцветии *G. dalenii subsp. dalenii* в 2022 г. насчитывали 8-12 цветков, что также больше по сравнению с 5-9 цветками в 2014-2016 гг. [3].

В 2022 г. цветки *G. murielae* и *G. dalenii subsp. dalenii* достигали 9-10 см в диаметре, что значительно больше, чем в 2014-2016 гг. (6,5-8,0 см у *G. murielae* и 5,0-5,5 см у *G. dalenii subsp. dalenii*).

В условиях культуры в Пермском крае *G. murielae* и *G. dalenii subsp. dalenii* относятся к группе летне-осеннецветущих геофитов с длительной весенне-летней вегетацией, не зимующих в грунте. Они ежегодно цветут и формируют замещающие клубнелуковицы. По изученным морфобиологическим характеристикам они отличаются в разные годы исследования. Сроки цветения данных видов можно регулировать сроками посадки клубнелуковиц. Таким образом, *G. murielae* и *G. dalenii subsp. dalenii*, учитывая особенности агротехники (выкапывание на зиму клубнелуковиц и сохранение их в зимнее время при низких положительных температурах с последующей весенней посадкой), проявляют высокую интродукционную устойчивость в климатических условиях Пермского края, могут быть использованы для озеленения и включения в селекционные программы в качестве источников декоративных и адаптивных признаков.

Библиографический список

1. Карписонова, Р.А. Методика фенологических наблюдений за травянистыми многолетниками в отделе флоры СССР / Р.А. Карписонова // Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР. – М., 1972. – С. 47-52.
2. Сацыперова, И.Ф., Рабинович А.М. Проект общесоюзной программы исследований по интродукции лекарственных растений // Растительные ресурсы. 1990. Т. 26, вып. 4. – С. 587-59.
3. Черткова, М.А. Биологические особенности видов гладиолуса (*Gladiolus* L.) при интродукции в Пермском крае: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Пермь, 2018. – С. 17-76.
4. Goldblatt, P. *Gladiolus* in Southern Africa / P. Goldblatt, J. Manning // Fernwood Press, Cape Town, 1998. – 319 p.
5. Тамберг, Т.Г. *Gladiolus* L. – Гладиолус, или Шпажник / Т.Г. Тамберг // Декоративные травянистые растения для открытого грунта СССР: Класс Однодольных, 1977. – Т.1 – С. 177-198.

Морфологическая изменчивость листьев древесного растения (*Acer negundo L.*) в условиях антропогенной нагрузки

К.Г. Колесникова

ПГНИУ

Научный руководитель: д.б.н., профессор С.А. Овеснов, ПГНИУ

Аннотация. Было проведено изучение морфологической изменчивости листьев клена ясенелистного (*Acer negundo L.*) на участках с разной степенью антропогенной нагрузки с использованием методики оценки качества среды по флуктуирующей асимметрии листовой пластинки. Так же было проведено определение качества окружающей среды на этих участках.

Ключевые слова: морфологическая изменчивость, *Acer negundo L.*, клен ясенелистный, антропогенная нагрузка.

В настоящее время все больше внимания уделяется проблеме антропогенного воздействия на окружающую среду. Одним из важных аспектов данной проблематики является изучение морфологической изменчивости листьев древесного растения в условиях антропогенной нагрузки автодорог.

Листья являются основным органом фотосинтеза, являются индикатором здоровья растений и могут отражать изменения в окружающей среде, такие как загрязнение воздуха и почвы.

Морфологическая изменчивость листьев может проявляться в изменении их формы, размера, сравнительной длины и толщины, а также химического состава. Морфологическая изменчивость – это изменчивость морфологических признаков в популяции, которая может быть вызвана как генетическими, так и экологическими факторами. Один из методов изучения морфологической изменчивости – флуктуирующая асимметрия, которая позволяет определить наличие стрессовых факторов в окружающей среде. Расчет показателя стабильности развития производился по методике В.М. Захарова [2].

Многие авторы в качестве биоиндикационного вида древесных растений использует березу повислую (*Betula pendula Roth.*) [1, 3, 4, 5], однако мы предлагаем использовать в качестве объекта клен ясенелистный (*Acer negundo L.*), широко распространенный в г. Вятские Поляны.

В исследовании были использованы листья, собранные на участках с разным уровнем антропогенного воздействия:

1. Участок 1. Городской парк. Был выбран для проведения контроля, так как движение транспорта внутри парка не предусмотрено.

2. Участок 2. Действующий мост через р. Ошторму (ул. Ленина/ул. Дзержинского). Третий участок был выбран ввиду того, что в 2021 году был закрыт один из двух мостов, соединяющий две части города. И все движение транспортных средств в том направлении, а также на предприятия и в деревни, расположенные в той стороне стало осуществляться по нему, что значительно увеличило транспортный поток.

3. Участок 3. Улица Советская. Был выбран из-за наличия двух автозаправочных станций в конце улицы, что обеспечивает достаточное движение транспортных средств. Так же по данной улице проходит один из вариантов проезда к мосту через р. Вятка и нескольким деревням района.

Таблица 1

Удельные выбросы отработавших газов автотранспорта
на участках исследования

	Оксид углерода, CO	Оксиды азота, NO _x	Углевородороды, CH	Сажа, C	Диоксид серы, SO ₂	Свинец, Pb	Бенз(а)пи-рен
Общее загрязнение газами на участке №2	22,936	4,3731	16,58816	0,2982	0,9093	0,27199	0,0001232
Общее загрязнение газами на участке №3	94,241	1,6404	8,361	0,1008	0,3733	0,11666	0,0000523

На участке №1 движения транспортных средств не производилось.

Участок №2.

Всего автомобилей: 1038, из них: автобус – 18, автомобильный тягач с полуприцепом – 3, грузовой автомобиль грузоподъемностью до 3 т – 39 ,легковой автомобиль – 978.

Участок №3.

Всего автомобилей: 442, из них: автобус – 0, автомобильный тягач с полуприцепом – 8, грузовой автомобиль грузоподъемностью до 3 т – 23, легковой автомобиль – 411.

На выбранных участках отбирались верхушечные листья Клена ясенелистного и проводились замеры отобранного материала.

Измерялись следующие показатели для оценки стабильности развития:

1. Ширина левой и правой половинок листа (см).
2. Длина жилки второго порядка, второй от основания листа (см).
3. Расстояние между основаниями первой и второй жилок второго порядка (см).
4. Расстояние между концами этих же жилок (см).
5. Угол между главной жилкой и второй от основания листа жилкой второго порядка (°).

После был проведен расчет показателя стабильности развития для каждого из участков и определение степени отклонения состояния организма от условной нормы по величине флуктуирующей асимметрии.

Значения показателя асимметрии, соответствующие первому баллу, наблюдаются обычно в выборках растений из благоприятных условий произрастания. Пятый балл – критическое значение, такие значения показателя асимметрии наблюдаются в крайне неблагоприятных условиях, когда растения находятся в сильно угнетенном состоянии [2].

Таблица 2

Балльная шкала оценки отклонений состояния организма от условной нормы по величине флуктуирующей асимметрии

Балл	Значение показателя асимметричности
1 балл – условная норма	$< 0,015$
2 балла	0,016– 0,025
3 балла	0,026 – 0,035
4 балла	0,036 – 0,045
5 баллов	0,046 – 0,055
Критическое состояние	$> 0,056$

Таблица 3

Степень нарушения стабильности развития клена ясенелистного
на участках исследования

Номер участка	Средняя величина показателя стабильности развития для участка	Балл стабильности развития	Степень нарушения стабильности развития на участке
Участок №1 (Городской парк)	0,005	1 балл	Условная норма
Участок №2 (Мост через р. Ошгорма)	-0,014	1 балл	Условная норма
Участок №3 (Ул. Советская)	0,029	3 балла	Средний уровень отклонения от нормы

Показатели стабильности развития у выборки листьев клена ясенелистного, взятых на участках с разной степенью антропогенной нагрузки, указывают на невысокий уровень антропогенного воздействия и не превышают основную норму ($<0,015$) на участках №1 и №2. На участке №3 установлен средний уровень отклонения от нормы.

Было установлено, что на показатель флуктуирующей асимметрии влияние оказывает не только количество автотранспорта, но и вид транспортного средства.

Библиографический список

1. Боголюбов А. С. Оценка экологического состояния леса по асимметрии листьев / А. С. Боголюбов. – Москва : Экосистема, 2002. – 10 с.
2. Захаров В. М. Здоровье среды: методика оценки / В. М. Захаров, Ю. А. Буйлов, М. В. Кравченко. – Москва : Центр экологической политики России, 2000. – 68 с.
3. Иванов В. П. Использование асимметрии площадей листовых пластинок *Betula pendula* в качестве индикатора экологического состояния природной среды / В. П. Иванов, С. И. Марченко, Н. В. Акименко // Вестник Марийского государственного технического университета. Сер. Лес. Экология. Природопользование. – 2009. – № 3. – С. 68-74.
4. Криволицкий Д. А. Биондикация и биомониторинг / Д. А. Криволицкий. – М. : Наука, 1991. – 288 с.
5. Хикматуллина Г. Р. Сравнение морфологических признаков листа *Betula pendula* в условиях урбаноосреды / Г. Р. Хикматуллина // Вестник Удмуртского университета. Биология. Науки о земле. – 2013. – Вып. 2. – С. 48-56.

Биоразнообразие сосудистых растений в окрестностях д. Осипова (Кудымкарский район)

Д.Н. Кольчурина
ПГНИУ

Научный руководитель – д-р биол. наук, проф., С.А. Овеснов, ПГНИУ

Аннотация. В последнее время все более существенной становится проблема, связанная со вторжением в природные экосистемы чужеродных (инвазивных) видов. Нами была предпринята попытка изучения флоры малого населенного пункта, удаленного от крупных магистралей, как возможного источника инвазивных видов. Производится анализ биоразнообразия сосудистых растений и сбор гербария в окрестностях небольшой д. Осипова в летний сезон 2022 г. Весь гербарий был определен. Выявлено 259 видов сосудистых растений, из которых 4 вида являются инвазивными. В результате проделанной работы выяснилось, что малые населенные пункты не являются серьезными источниками инвазивных видов.

Ключевые слова: биоразнообразие растений, деревня Осипова, инвазивные виды

В сравнительно недавнее время остро встала проблема с адвентивными видами, которые начали вторгаться в природные экосистемы. Подобные виды называют инвазивными [1]. В связи с этим, последние 30 лет существует практика составления Черных книг, которые содержат сведения об инвазивных видах того или иного региона. Подобная работа была начата и в Пермском крае. Нами была предпринята попытка изучения флоры малого населенного пункта, удаленного от крупных транспортных магистралей, как возможного источника распространения инвазивных видов.

Объект исследования – биологическое разнообразие сосудистых растений д. Осипова и ее окрестностей [2]. Особый интерес представляет то обстоятельство, что небольшая деревня располагается далеко от крупных населенных пунктов. В данном случае источником чужеродных видов могут быть практически исключительно приусадебные участки. Был использован маршрутный метод исследования, который заключался в посещении основных мест обитания как в деревне, так и ее окрестностях. В процессе был собран гербарий по общепринятой ме-

тодике [5]. Кроме того, были сфотографированы основные виды растений и сообществ. В камеральный период гербарий был определен на кафедре ботаники и генетики растений [4].

Всего было выявлено 259 видов, относящихся к 175 родам и 56 семействам. Самым крупным семейством во флоре д. Осипова является *Asteraceae*, что является вполне типичным для голарктических флор. *Rosaceae* поднялись до 2 места, причиной этому может служить то, что сбор гербарных образцов происходил вблизи жилья и дорог. Расположились наравне *Poaceae* и *Fabaceae*. Представителей *Poaceae* в полевых условиях различить между собой весьма трудно, а вот представители *Fabaceae* имеют между собой характерные отличительные особенности, что облегчает их сбор и диагностику (табл. 1).

Таблица 1

Головная часть семейственного спектра флоры д. Осипова

№	Семейство	Число родов		число видов	
		абсолютное	% (от общего числа)	абсолютное	% (от общего числа)
1	<i>Asteraceae</i>	25	14,29	31	11,97
2	<i>Rosaceae</i>	14	8,00	21	8,11
3-4	<i>Fabaceae</i>	6	3,43	18	6,95
3-4	<i>Poaceae</i>	15	8,57	18	6,95
5	<i>Caryophyllaceae</i>	7	4,00	12	4,63
6-8	<i>Lamiaceae</i>	8	4,57	10	3,86
6-8	<i>Ranunculaceae</i>	7	4,00	10	3,86
6-8	<i>Apiaceae</i>	9	5,14	10	3,86
9-11	<i>Scrophulariaceae</i>	5	2,86	8	3,09
9-11	<i>Brassicaceae</i>	8	4,57	8	3,09

Наиболее крупные роды флоры – *Viola*, *Stellaria*, *Salix*, *Vicia*, *Galium*, *Carex*. Представители рода *Galium* и *Carex* заняли 5–6 места, что совсем не характерно для рода *Carex*, который по количеству видов занимает чаще всего 1 место (в области умеренно-лесных флор) [3]. Причиной этому может служить сложность полевого определения видов, поскольку точное определение возможно при наличии зрелых мешочков.

Высокую позицию занял род *Viola*, с наибольшим количеством видов, хотя чаще всего данный род не поднимается выше 7 места [3] (табл. 2).

Таблица 2

Головная часть родового спектра д. Осипова

№	Род	Число видов	
		абсолютное	% (от общего числа)
1	<i>Viola</i>	8	9,41
2-4	<i>Stellaria</i>	6	7,06
2-4	<i>Salix</i>	6	7,06
2-4	<i>Vicia</i>	6	7,06
5-6	<i>Galium</i>	5	5,88
5-6	<i>Carex</i>	5	5,88
7-14	<i>Equisetum</i>	4	4,71
7-14	<i>Veronica</i>	4	4,71
7-14	<i>Polygonum</i>	4	4,71
7-14	<i>Lathyrus</i>	4	4,71

Лидирующую позицию в биологическом спектре флоры занимают гемикриптофиты (57,92% флоры), что доказывает умеренно-холодный характер флоры. Также имеются фанерофиты (9,26%), хамефиты (8,11%), геофиты (10,42%), терофиты (13,90%). Доминирующее положение представителей изученной флоры по отношению к влаге занимают мезофиты (84,56%), также высокий процент имеют гигрофиты (11,58%). Кроме того, присутствуют ксеромезофиты (3,09%), мезогигрофиты (1,16%), гидрофиты (0,39%). Все эти показатели позволяют охарактеризовать флору окрестностей деревни Осипова как мезофильную лесную флору.

Из числа чужеродных видов 4 проявили себя как инвазивные. *Amelanchier ovalis* Medik. не привередлив в отношении почв и чувствует себя прекрасно как на глинистых, так и на песчаных почвах [1]. Одна особь *Malus baccata* (L.) Borkh. была найдена в нетипичном для него месте в окрестностях д. Осипова, что говорит о начале расселения данного вида из дачных участков и садов. В окрестностях деревни *Heraclium sosnowskyi* Manden. встречается достаточно часто, практически во всех местообитаниях, так как в 1970-х использовался как кормовая база для КРС и массово сеялся по Коми-Пермяцкому автономному округу. *Symphytum officinale* L. – вид, который используют в основном

как декоративное растение, начал расселяться от его места посадки на небольшое расстояние.

В результате проведенной работы выяснилось, что малые населенные пункты не являются серьезными источниками инвазивных видов.

Библиографический список

1. Виноградова Ю.К., Майоров С.Р., Хорун Л.В. Черная книга флоры Средней России: чужеродные виды растений в экосистемах Средней России. – М.: ГЕОС, 2010. – 512 с.

2. Миркин Б.М. Современная наука о растительности. – М.: Логос, 2001. – 264 с.; ил.

3. Овеснов С.А. Местная флора. Флора Пермского края и ее анализ: учеб. пособие по спецкурсу / Перм. гос. ун-т. – Пермь, 2009. – 171 с.; ил.

4. Иллюстрированный определитель растений Пермского края / С.А. Овеснов, Е.Г. Ефимик, Т.В. Козьминых и др. / Перм. гос. ун-т. – Пермь: Кн. мир, 2007. – 743 с.; ил.

5. Скворцов А.К. Гербарий. Пособие по технике. М.: Наука, 1977. 199 с.

Трансмиссивные инфекции, выявленные с использованием мультиплексной ПЦР

Т.А. Лапаева¹, А.В. Шилова²

¹ПГНИУ

²Филиал ООО «ЦКДЛ» в Пермском крае

Научный руководитель – д.б.н., профессор **С.В. Боронникова**, ПГНИУ

Аннотация. С помощью метода мультиплексной ПЦР в режиме реального времени было исследовано 1136 проб клещей *Ixodes persulcatus* (Schulze, 1930) из Пермского края. В 418 образцах (36,8%) обнаружен генетический материал возбудителей инфекций, переносимых клещами: иксодовый клещевой боррелиоз, клещевой вирусный энцефалит, моноцитарный эрлихиоз человека и гранулоцитарный анаплазмоз человека. В 36 пробах (3,2%) установлено инфицирование клещей двумя возбудителями.

Ключевые слова: ПЦР-анализ, клещевые инфекции

Иксодовые клещи являются переносчиками возбудителей целого ряда заболеваний человека, объединяемых термином – инфекции, переносимые клещами (ИПК): иксодовый клещевой боррелиоз, клещевой вирусный энцефалит, моноцитарный эрлихиоз человека и гранулоцитарный анаплазмоз человека [1, 2].

Цель исследования – провести анализ проб клещей на наличие патогенных инфекций методом мультиплексной ПЦР, определить встречаемость инфекций и микстинфекций, переносимых клещами.

Исследования проведены в 2022–2023 годах на базе филиала ООО «ЦКДЛ» в Пермском крае.

Материалом исследования служили пробы предположительно инфицированных клещей, полученные ЦКДЛ от медицинских учреждений Пермского края в период с 15.04.2022 по 21.10.2022.

Для выявления инфекций, переносимых клещами, использовали метод Multiplex PCR Real-time. Анализ проводили в 4 этапа: сбор материала; экстракция РНК/ДНК из биологического материала набором реагентов «РИБО-преп» вариант 100; обратная транскрипция с РНК на кДНК (для вируса клещевого энцефалита); амплификация участка кДНК/ДНК объектов и гибридизационно-флуоресцентная детекция с использованием набора реагентов «АмплиСенс® TBEV, B.burgdorferi sl, A.phagocytophilum, E.chaffeensis/E.muris-FL». Этапы экстракции, обратной транскрипции и амплификации проводили с использованием коммерческих реагентов согласно рекомендациям производителя [3,4]. Амплификация и анализ результатов проведены при помощи прибора «ДТ-прайм 5» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) с соблюдением рекомендуемых параметров программ. Обработка полученных данных проведена с помощью программного обеспечения прибора «ДТ-прайм 5» [5].

Из 1136 проб клеща таежного положительный результат на инфекции, переносимые клещами, установлен у 418 проб (36,8%), из них 382 пробы (33,6%) показали наличие одной инфекции (табл. 1). Наибольшее количество проб с положительным результатом выявлено для возбудителя инфекции ИКБ (32,4%).

Таблица 1

Положительные пробы с одной выявленной инфекцией

Инфекция	Число положительных проб	Процент от общего числа проб
Иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ)	368	32,4
Клещевой вирусный энцефалит (КВЭ)	2	0,2
Моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ)	9	0,8
Гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ)	3	0,3

В 36 пробах (3,2%) было обнаружено инфицирование клещей двумя возбудителями, то есть наличие микстинфекций (табл. 2). По числу положительных проб выделяется коинфекция ИКБ+МЭЧ (1,9%).

Таблица 2

Положительные пробы с двумя возбудителями инфекций

Коинфекция	Число положительных проб	Процент от общего числа проб
Иксодовый клещевой боррелиоз + гранулоцитарный анаплазмоз человека (ИКБ+ГАЧ)	7	0,6
Иксодовый клещевой боррелиоз + клещевой вирусный энцефалит (ИКБ+КВЭ)	4	0,4
Иксодовый клещевой боррелиоз + моноцитарный эрлихиоз человека (ИКБ+МЭЧ)	22	1,9
Гранулоцитарный анаплазмоз человека + моноцитарный эрлихиоз человека (ГАЧ+МЭЧ)	2	0,2
Гранулоцитарный анаплазмоз человека + клещевой вирусный энцефалит (ГАЧ+КВЭ)	1	0,1

Таким образом, за сезон 2022 года из 1136 проб клеща таежного положительный результат на инфекции, переносимые клещами, установлен у 418 проб (36,8%), из них 382 пробы (33,6%) показали наличие одной инфекции, а 36 проб (3,2%) – наличие микстинфекций. Результаты исследования важны для дальнейшего прогнозирования встречаемости данных инфекций, совершенствования мер специфической профилактики.

Библиографический список

1. Бондаренко Е.И., Тимофеев Д. И., Фоменко Н. В. и др. Комплексный подход к выявлению возбудителей инфекций, переносимых клещами, с помощью ПЦР-анализа с детекцией в режиме реального времени // Сибирский медицинский журнал. 2012. №4. С. 33–36.

2. Тетерин В.Ю., Коренберг Э.И., Нефедова В.В. и др. Клинико-лабораторная диагностика инфекций, передающихся иксодовыми клещами, в Пермском крае // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2013. №4. С. 11–14.

3. Методические рекомендации к набору реагентов «АмплиСенс® TBEV, B.burgdorferi sl, A.phagocytophilum, E.chaffeensis / E.muris-FL». Утв. От 23.07.2021. 39 с. URL:<https://www.interlabservice.ru/catalog/reagents/?sid=1501&id=6576> (Дата обращения: 23.10.2022)

4. Инструкция к набору реагентов «АмплиСенс® TBEV, V.burgdorferi sl, A.phagocytophilum, E.chaffeensis E.muris-FL». Утв. от 19.07.2021. 23 с. URL:<https://www.interlabservice.ru/catalog/reagents/?sid=1501&id=6576> (Дата обращения: 23.10.2022)

5. Руководство по эксплуатации. Часть II. RealTime_PCR. Программа управления амплификаторами детектирующими ДТпрайм, ДТлайт. Версия 06-2020. 88 с.

URL: https://dna-technology.ru/dnaproducts/equipments/rtamplificators/dt_prime (Дата обращения: 20.03.2023)

Молекулярно-генетический анализ кормовых сортов озимой тритикале

А.П. Масленникова

ПГНИУ

Научный руководитель – канд. биол. наук, доц. *М.А. Данилова*, ПГНИУ

Аннотация. Проведен молекулярно-генетический анализ с использованием ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК трёх кормовых сортов тритикале озимой. Определены показатели генетического разнообразия и генетической структуры исследуемых сортов.

Ключевые слова: ISSR-PCR маркеры, генетическое разнообразие, ×*Triticosecale* Wittm. & A. Camus.

Тритикале – гексаплоидный гибрид ржи и пшеницы ($2n = 42$), который совмещает в себе признаки обоих родительских видов. По многочисленным исследованиям отмечено, что количество белка и углеводов в зерне зависит от зоны произрастания, сорта тритикале и условий выращивания [1]. К тому же содержание основных питательных веществ и минералов в тритикале превышает содержание в пшенице и ржи. Мука тритикале также характеризуется высоким содержанием витаминов В1, В2, РР и Р, а также β-каротина. Зеленая масса тритикале пригодна для скармливания скоту до фазы молочной спелости зерна [2]. Она используется для заготовки силоса и сенажа, гранулированного корма. Тритикале получила от пшеницы и ржи ряд полезных характеристик: высокую урожайность, качество продукции, устойчивость к ряду болезней зерновых культур, нетребовательность к агрохимическим показателям почвы, что делает данную культуру весьма перспективной [3]. Однако ряд существенных недостатков тритикале, таких как

ломкость колоса при обмолоте, склонность к полеганию, высокая predisposition к предуборочному прорастанию зерна в колосе, череззерница и др., препятствует широкому внедрению этой культуры в производство [4].

Исходя из всего вышеперечисленного, следует, что стоит обратить особое внимание на изучение признаков тритикале, с целью дальнейшего использования в селекции и выведения более устойчивых сортов для региона.

Целью исследования являлось выявление генетического разнообразия и генетической структуры трех кормовых сортов озимой тритикале. Объектами исследования выбран растительный материал, собранный в 2022 году на опытном поле Пермского научно-исследовательского института сельского хозяйства: 3 кормовых сорта (Слон, Торнадо, Уральский Кормовой). Отбор образцов проводился на поле №3, севооборота №1: кормовые сорта Слон, Торнадо и Уральский кормовой (соответственно деланки 8, 15, 23). Для молекулярно-генетического анализа был использован ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) – метод анализа полиморфизма ДНК [5].

Для ПЦР использованы пять наиболее информативных ISSR-праймеров ((ISSR-10 ((ATG)7C), X9 ((ACC)6G), X11 ((AGC)6G), ISSR-8 ((GAG)6C), X10 ((AGC)6C), показавшие наибольшую эффективность с ДНК озимой тритикале [6]. При молекулярно-генетическом анализе *×Triticosecale* Wittm. ex *A. Camus* выявлено 70 ISSR-PCR маркера, из которых 50 были полиморфными ($P_{95}=0,587$). Доля полиморфных локусов выше в сорте «Слон» ($P_{95}=0,806$), а ниже – в сорте «Торнадо» ($P_{95}=0,839$). Число ISSR-PCR маркеров варьировало в зависимости от праймера: от 12 (праймер ISSR8) до 17 (праймер ISSR10), а их размеры – от 220 до 2900 п.н. Число полиморфных маркеров в общей выборке *×Triticosecale* Wittm. ex *A. Camus* варьировало от 5 до 12, а доля полиморфных локусов в зависимости от ISSR-PCR праймера колебалась от 0,450 до 0,788.

В изученных выборках *×Triticosecale* Wittm. ex *A. Camus* выявлено 23 уникальных ISSR-PCR маркеров, из которых в сорте «Слон» – 14, в сорте «Торнадо» – 3 и в сорте «Уральский кормовой» – 6. Средняя ожидаемая гетерозиготность (H_E) на общую выборку *×Triticosecale* Wittm. ex *A. Camus* составила 0,252. Этот показатель наибольший в выборке сорта «Слон» ($H_E = 0,202$), а наименьший ($H_E = 0,105$) – в выборке сорта «Торнадо».

Абсолютное число аллелей (n_a) в общей выборке равно 1,900, а эффективное число аллелей (n_e) – 1,401. Максимальный показатель ($n_a = 1,571$) отмечен в сорте «Слон», а минимальный ($n_a = 1,300$) – в сорте

«Торнадо». Наибольшее значение эффективных аллелей (n_e) выявлено в сорте «Слон» и составило – 1,349, а наименьшее – в сорте «Торнадо» и оказалось равным 1,183.

Для описания генетической структуры популяций были рассчитаны следующие параметры: ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_T) на общую выборку равна 0,244; ожидаемая доля гетерозиготных генотипов (H_S) в отдельной популяции равна 0,151; доля межпопуляционного генетического разнообразия в общем разнообразии или коэффициент подразделенности (G_{ST}) равен 0,349.

Наименьшее генетическое расстояние наблюдается между сортами «Торнадо» и «Уральский кормовой», максимальное же расстояние между сортами «Слон» и «Торнадо».

Установлено, что среди изученных 3 сортов тритикале наибольшим генетическим разнообразием обладает сорт «Слон» ($P_{95} = 0,806$; $H_E = 0,202$; $n_e = 1,349$; $R = 14$), а наименьшим – сорт «Торнадо» ($P_{95} = 0,839$; $H_E = 0,105$; $n_e = 1,183$; $R = 3$).

Библиографический список

1. Груздев Л.Г., Жербак Э.А., Новиков Н.Н. Фракционный аминокислотный состав и биологическая ценность белков зерна тритикале в процессе его формирования // Известия ТСХА. 1976. №2. С. 98-109.
2. Гучанов С.А., Мельникова О.В., Торилов В.Е. Урожайность и качество зерна тритикале озимой в зависимости от элементов технологии возделывания // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. №4. С.90–95.
3. Куркиев К.У., Куркиев У.К. Новый исходный материал для селекции короткостебельных гексаплоидных тритикале // Роль тритикале в 155 стабилизации и увеличении производства зерна и кормов: сб. тр.межд. науч.- практ. конференции. Ростов-на-Дону, 2010. С.118-121.
4. Ворончихин В.В. Комплексная оценка исходного материала для селекции озимой гексаплоидной тритикале в ЦРНЗ: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. Москва, 2020. 23с.
5. Zietkiewicz E. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction mplification // Genomics. 1994. Vol. 20. P. 176–183.
6. Ажимова В.А., Масленникова А.П., Боронникова С.В., Данилова М.А., Майсак Г.П. Подбор эффективных ISSR-праймеров для озимых сортов тритикале // Симбиоз-Россия 2022. 2022. С. 405-408.

Молекулярно-генетический анализ *Brassica napus* L.

Е.А. Рябова, Н.Н. Бельтюкова

ПГНИУ

Аннотация. Представлены данные по начальному этапу молекулярно-генетического анализа *Brassica napus* L.. Охарактеризованы методики выделения ДНК. Проведена оценка эффективности 22 ISSR-праймеров для трех сортов рапса и выбраны 5 наиболее информативных праймеров. Представлены показатели генетического разнообразия.

Ключевые слова: молекулярно-генетический анализ, рапс, *Brassica napus* L., праймер, генетическое разнообразие.

Одним из главных преимуществ рапса является его высокая урожайность и способность расти на различных типах почв. Кроме того, он является хорошим источником белка и жирных кислот, которые необходимы для питания людей и животных.

Анализ молекул ДНК может быть использован для оценки генетического полиморфизма рапса, в целях создания сортов пищевого назначения.

Рапс (*Brassica napus* L.) относится к семейству капустных (*Brassicaceae*) и является двухлетним растением. Родина рапса – Средиземноморье и Южная Европа. В настоящее время рапс выращивается во многих странах мира, в том числе в России. По данным Федеральной службы государственной статистики, в 2020 году площадь посева рапса в России составила 1,9 миллиона гектаров. Наибольшие площади посева были зарегистрированы в Центральном и Сибирском федеральных округах. [1]

В качестве объектов исследования выбраны три сорта *Brassica napus* L., выращиваемые на территории Пермского Научно-исследовательского института сельского хозяйства, село Лобаново. Молекулярно-генетические исследования проведены у 90 растений *B. napus* L. Для исследования полиморфизма ДНК рапса были собраны образцы с 90 случайно выбранных проростков из чашки Петри.

В работе использовались три сорта *Brassica napus* L. Сорт Гордон включён в Госреестр по Северо-Западному и Северо-Кавказскому регионам.

Лист зелёный, долей среднее количество, зубчатость края средняя – сильная. Время цветения среднее. Стручок без носика, носик и цветоножка средней длины. Высота растений – 129-138 см. Новое поколение устойчивости к Фомозу RLM 7-Gen.

Вегетационный период в Пермском крае – 330 дней. Среднее содержание жира в семенах 50,0 %, сбор масла 18,2 ц/га, на 6,2 ц/га выше стандарта.

Сорт Гордон пригоден для выращивания на всех типах почв, подходит для поздних сроков сева. Для него характерно раннее цветение, интенсивное боковое ветвление, высокая урожайность [2].

Сорт Лауреат имеет длинный лист, средней ширины, зелёный, долей среднее количество, степень развития долей сильная, зубчатость края сильная. Время цветения среднее. Растение (общая длина, включая боковые ответвления) среднее – длинное, средней высоты. Стручок (без носика) длинный, носик средний, цветоножка средняя [3].

Вегетационный период 332 дня. Высота растений 137,3 см, высота прикрепления нижней ветви 53,2 см. Устойчивость к полеганию 4,5 балла. Зимостойкость 4,2 балла, выше стандарта на 0,3-0,9 балла. Масса 1000 семян 3,7 г. Содержание жира 45,1-47,8%. Рекомендован для возделывания на семена.

Сорт Вавожский местный включен в Госреестр по Центральному и Центрально-Черноземному регионам. Сорт ярового рапса 00 типа, который уже успел доказать свой высокий потенциал в России. Средне-ранний, устойчивый к полеганию с высоким содержанием масла. Масса 1000 семян 3,0 гр. Вегетационный период 100 дней [4].

Поскольку молекулярно-генетические исследования *Brassica napus* L. проводились впервые, для каждого сорта была подобрана оптимальная методика выделения ДНК. Материалом выделения ДНК служили свежие листья растений. Навеска растительного материала для выделения ДНК составляла 20 мг свежих листьев. Всего было проанализировано три методики выделения ДНК: метод С. Роджерса [5], модифицированный метод [6], метод с использованием процессора магнитных частиц KingFisher mL [7]. Катионным детергентом в первой методике являлся цетилтриметил бромид аммония (СТАВ). Модификация стандартной методики S.O. Rogers заключалась в том, что из протокола выделения был удален β-меркаптоэтанол и добавлен поливинилполипирролидон (PVPP), связывающий фенолы и не допускающий их взаимодействия с нуклеиновыми кислотами [6]. Для выделения ДНК с помощью магнитных частиц использовали стандартный протокол с применением реагентов, состав которых в протоколе не указан [8].

Для определения показателей генетического разнообразия из свежих листьев 90 образцов была выделена ДНК по оптимальной для трех сортов методике.

После выделения ДНК был проведен спектрофотометрический анализ на спектрофотометре NanoDrop 2000 («Thermo Scientific», USA) и определены концентрация ДНК в полученных пробах и степень их чистоты. Для проведения ПЦР концентрацию ДНК выравняли до 10 нг/мкл.

Выявление генетического полиморфизма ДНК *Brassica napus* L. проводили ISSR-методом анализа полиморфизма ДНК с применением полимеразной цепной реакции. Отбор эффективных ISSR-праймеров осуществлялся по выявлению наибольшего числа фрагментов, включая и полиморфные, на ISSR-спектре и воспроизводимости результатов ПЦР. Эффективность ISSR-праймеров рассчитывалась в соответствии со шкалой 1–5: от низкой (1) до высокой (5) [8].

Для полимеразной цепной реакции ISSR-PCR-методом реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 2 единицы Tag-полимеразы («Силекс М», Россия); 2,5 мкл стандартного 10x буфера для ПЦР («Силекс М», Россия); 25 пМ праймера («Евроген», Россия); 2,5 мМ MgCl₂ («Силекс М», Россия); 0,25 мМ dNTP («Fermentas», Литва); 5 мкл тотальной ДНК.

Аmplификацию проводили в термоциклере MJ Mini-Cycler («Bio-Rad», USA) по следующей программе для ISSR-анализа: предварительная денатурация 94°C, 2 мин.; первые пять циклов 94°C, 20 сек.; температура отжига, 10 сек.; 72°C, 10 сек.; в последующих тридцати пяти циклах 94°C, 5 сек.; температура отжига, 5 сек.; 72°C, 5 сек. Последний цикл элонгации длился 2 мин при 72°C. Температура отжига в зависимости от G/C состава праймеров варьировала от 56 до 64°C для ISSR-праймеров. В качестве отрицательного контроля (К-) в реакционную смесь для проверки чистоты реактивов добавляли вместо ДНК 5 мкл деионизированной воды. Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 1,7% агарозном геле в 1x TBE буфере, окрашивали бромистым этидием и фотографировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Для определения длины фрагментов ДНК использовали маркер молекулярной массы (100 bp + 1.2 + 1.5 + 2 + 3 Kb DNA Ladder); «ООО-СибЭнзим-М», Москва), определение длин фрагментов проводилось с использованием программы Quantity One («Bio-Rad», USA). Для проверки достоверности полученных спектров ДНК опыт повторяли не менее трех раз.

Для выявления эффективности были избраны 22 ISSR-праймеров с ди- и тринуклеотидным якоревым мотивом с одним или двумя нуклеотидами в качестве якорей. Эти ISSR-праймеры наиболее часто исполь-

зуются для определения генетического разнообразия растений с использованием ISSR-фингерпринтинга [8]. Длина анализируемых ISSR-праймеров варьировала от 13 (X1) до 22 (ISSR9) нуклеотидов. Каждый праймер индивидуально был проанализирован в ПЦР с тотальной ДНК каждого исследуемого вида.

С целью количественной оценки полиморфизма и определения уровня дивергенции между изученными сортами полученные данные были представлены в виде матрицы бинарных данных, в которых наличие или отсутствие в ISSR-спектрах одинаковых по размеру фрагментов рассматривалось, соответственно, как состояние 1 или 0. Учитывали только воспроизводимые в повторных экспериментах фрагменты ДНК, полиморфизм по интенсивности в расчет не брали.

Компьютерный анализ молекулярно-генетического полиморфизма ДНК проведен с помощью общепринятых компьютерных программ POPGENE 1.31 и специализированного макроса GenAlEx6 для MS-Excel с определением: доли (P95) полиморфных локусов, абсолютного (na) числа аллелей, эффективного (ne) числа аллелей, ожидаемой (HE) гетерозиготности [8]. Уровень внутривидового разнообразия оценен через показатели: среднего числа морф (μ) и доли редких морф (h) [5].

Таблица 1

Показатели генетического разнообразия трех сортов *Brassica napus* L. на основании полиморфизма ISSR-маркеров

Сорт	H_E	n_a	n_e	I
Вавожский местный	0,085 (0,164)	1,254 (0,439)	1,145 (0,301)	0,128 (0,238)
Гордон	0,052 (0,135)	1,164 (0,373)	1,089 (0,250)	0,079 (0,196)
Лауреат	0,027 (0,099)	1,091 (0,290)	1,046 (0,189)	0,041 (0,144)
На общую выборку	0,054 (0,011)	1,600 (0,494)	1,333 (0,343)	0,299 (0,282)

По результатам исследования трех сортов были сделаны следующие выводы:

1) Оптимальной методикой выделения ДНК для сортов *Brassica napus* L. является модифицированный метод Ю.С. Нечаевой и др. (2011), в котором катионным детергентом является цетилтриметил бромид аммония (СТАВ) с добавлением поливинилполипирролидона (PVPP).

2) Из 22 протестированных для каждого вида ISSR-праймеров были отобраны 5 наиболее эффективных, из которых четыре динуклеотидных

((AC)8CG, (AC)8CC, (GA)8C, (AG)8CA), и один тринуклеотидный ISSR-праймер (СТС)6С).

3) Всего для культуры рапса с применением 5 праймеров ISSR – метода было выявлено 55 амплифицированных фрагментов, среди них 25 полиморфных. Показатели генетического разнообразия оказались невысокими: $P_{95} = 0,472$, $H_E = 0,054$, $I = 0,299$.

4) Самые низкие показатели генетического разнообразия отмечены у сорта рапса Лауреат ($P_{95} = 0,122$, $H_E = 0,027$, $I = 0,041$), выше они у сорта Гордон ($P_{95} = 0,244$, $H_E = 0,052$, $I = 0,079$) и сорта Вавожский местный ($P_{95} = 0,341$, $H_E = 0,085$, $I = 0,128$).

5) UPGMA-дендрограмма генетического сходства особей трех изученных сортов рапса, построенная на основании полиморфизма ISSR-маркеров, содержит два кластера, один из которых образован сортами Лауреат и Гордон, другой — сортом Вавожский местный.

Библиографический список

1. К.Э. Лайкам, А.В. Базаров, Н.А. Воробьева, Л.В. Демина, А.В. Епихина, А.П. Зинченко, С.В. Киселёв, В.С. Ключева, А.В. Ленник, В.Н. Нестеров, Е.И. Новокщенова, Е.Э. Обычайко, А.В. Петриков, Г.Г. Покатович, В.Б. Сенгилейцева, Л.В. Субботина, А.Н. Усачёв, Н.В. Шашлова. Итоги Всероссийской сельскохозяйственной переписи 2016 года: В 8 т. // Федеральная служба гос. статистики. М.: ИИЦ «Статистика России», 2018. Т. 4. С. 90.

2. URL: <https://glavagronom.ru/base/seeds/maslichnie-raps-ozimii-gordon-kvs-8756867>

3. URL: <https://glavagronom.ru/base/seeds/maslichnie-raps-ozimii-laureat-fnc-vik-im.-v.r.-vilyamsa-9253562>

4. URL: <https://www.agronom.info/Ольга>

5. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. – 1985. Vol. 1, № 19. P. 69-76.

6. Нечаева Ю.С., Бельтюкова Н.Н., Пришнинская Я.В. и др. Оптимизация методики выделения ДНК некоторых хвойных видов растений Пермского края // Материалы междунар. конф. «Синтез знаний в естественных науках. Рудник будущего: проекты, технологии, оборудование». Пермь, 2011. С.278–282.

7. URL: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/5400050>

8. Календарь Р.Н., Боронникова С.В. Анализ молекулярно-генетического полиморфизма природных популяций редких видов растений Урала с помощью ретротранспозонов // Материалы Четвертого Московского междунар. конгресса. М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии»; Изд-во РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2007. Ч. 2. С. 121.

9. Nei M. Molecular evolutionary genetics. N.Y.: Columbia Univ. press, 1987. 512 p.

Терпены, выделяемые растениями почвенного покрова лесов Пермского края

В. Л. Спирина

ПГНИУ

Научный руководитель – профессор Л. В. Новоселова, ПГНИУ

Аннотация. Терпены и их кислородсодержащие производные являются одними из важнейших летучих органических соединений, играющих ключевую роль в реакциях, происходящих в пограничном слое атмосферы. Моно- и сесквитерпены начинают реагировать с озоном и различными радикалами. Их взаимодействия приводят к фотохимическому образованию избытка озона, газообразных загрязнителей и вторичных атмосферных аэрозолей. По этой причине происходит ухудшение качества воздуха у земной поверхности.

В работе рассматриваются растения травяно-кустарничкового яруса и, в частности, выделяемые ими монотерпены и сесквитерпены. Приводятся результаты лабораторных исследований эмиссии растений: многолетними травами, кустарничками, лишайниками и др.

Ключевые слова: растения травяно-кустарничкового яруса, терпены, качественный анализ.

Введение. В атмосфере Земли находится огромное количество органических соединений, которые различаются по химическим и физическим свойствам, например, летучесть, высокая реакционная способность и др. Эти вещества влияют на глобальный климат, растительность Земли и состояние здоровья человека [1-3].

Летучие органические соединения принимают непосредственное участие в реакциях, которые происходят в пограничном слое атмосферы. Кроме того, они принимают участие в формировании оптических свойств атмосферы и её окислительного потенциала [4,5].

Терпены и их кислородсодержащие производные являются одними из важнейших летучих органических соединений, играющих ключевую роль в реакциях, происходящих в пограничном слое атмосферы. Моно- и сесквитерпены начинают реагировать с озоном и различными радикалами. Их взаимодействия приводят к фотохимическому образованию избытка озона, газообразных загрязнителей и вторичных атмосферных аэрозолей. По этой причине происходит ухудшение качества воздуха у земной поверхности [1,2,6].

Одним из источников эмиссии летучих органических соединений является растительность Земли. Качественный состав выделений растений травяно-кустарничкового яруса: кустарничков, мохообразных, многолетних травянистых растений и др. является не до конца изученным и охарактеризованным [4,5].

Объекты исследования. Во второй декаде мая 2022 г. были отобраны растения, произрастающие в лесах хвойно-лиственной подзоны в Пермском крае на особо охраняемой природной территории «Осинская лесная дача». А именно:

- Семейство Ericaceae: *Ledum palustre* L., *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng, *Vaccinium myrtillus* L., *Oxycoccus palustris* Pers.;
- Семейство Rosaceae: *Rubus saxatilis* L.;
- Семейство Pyrolaceae: *Chimaphila umbellata* (L.) W. Barton;
- Семейство Apiaceae: *Aegorodium podagraria* L.;
- Семейство Aristolochiaceae: *Asarum europaeum* L.;
- Семейство Lycopodiaceae: *Lycopodium complanatum* L.

Метод исследования. Качественный анализ терпенов, выделяемых растениями в газовую фазу, проводили с помощью твердофазной микроэкстракции в сочетании с газовой хроматографией-масс-спектрометрией.

Растения выкапывали с корнями. После транспортировки в лабораторию промывали почву с корней кустарников и ризоидов мохообразных. Затем растение помещали в стеклянный сосуд и закрывали крышкой со специальным отверстием для ввода сорбционного волокна. Затем опускали волокно и оставляли на 30 мин. После этого его погружали в нагретый испаритель газового хроматографа на 10 мин. По окончании анализа получали хромато-масс-спектрограммы, на которых затем определяли отдельные соединения. Для идентификации соединений использовали масс-спектры и расчетные линейные индексы удерживания.

Результаты исследования. На хроматограммах девяти видов растений зафиксировано более 200 соединений. Количество пиков сильно различается: максимальное число зафиксировано на хроматограммах выделений *Rubus saxatilis* L. и *Aegorodium podagraria* L. (63 и 60 соединений). Минимальное количество соединений соответствует выделениям *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng и *Oxycoccus palustris* Pers. (11 и 10 соединений).

Наибольшее количество идентифицированных соединений относится к группе терпенов, включающей 27 монотерпенов C₁₀, 89 сесквитерпенов C₁₅ и три дитерпена C₂₀ (последние соединения зарегистрированы только в летучих веществах *Ch. umbellata* L.). Практически на всех хроматограммах были зафиксированы выделения монотерпенов, кроме

хроматограммы эмиссии *Arct. uva-ursi* L. Наибольшее относительное содержание монотерпенов на хроматограммах *Ox. palustris* Pers. и *L. palustre* L. Распространенными представителями, обнаруженными в выделениях, этой группы были альфа-пинен, мирцен, 3-карен и лимонен.

Наибольшее относительное содержание сесквитерпенов зафиксировано в выделениях *Ch. umbellata* L. и *Vaccinium myrtillus* L. Распространенными соединениями этой группы являются альфа-фунебрен, палюстрол, альфа-копаен и бета-кариофиллен.

Выводы. В ходе исследования был проведен качественный анализ летучих выделений девяти видов растений. Относительное содержание компонентов, выделяемых растениями, показывает, что в них преобладают группы монотерпенов и сесквитерпенов. Из этого следует, что растения травяно-кустарничкового яруса являются источником большого числа терпенов, у которых существует постулируется высокий потенциал образования озона, других атмосферных фотоокислителей и вторичных аэрозолей. Следовательно, они могут вносить существенный вклад в общее содержание реакционноспособных соединений, влияющих на химические процессы в атмосфере.

Библиографический список

1. Atkinson R. Atmospheric chemistry of VOCs and NOx // Atmospheric environment. – 2000. – V. 34. – №. 12-14. – P. 2063-2101. DOI: 10.1016/S1352-2310(99)00460
2. Glasius M., Goldstein A. H. Recent discoveries and future challenges in atmospheric organic chemistry // Environ. Sci. Technol. – 2016. – V. 50. – №6 – P. 2754–2764. DOI: 10.1021/acs.est.5b05105
3. Hester R. E., Harrison R. M. (ed.). Volatile organic compounds in the atmosphere. – Royal Society of Chemistry, 1995. – V. 4. – P. 140. DOI: 10.1021/ja965571z
4. Isidorov V. A. Non-methane hydrocarbons in the atmosphere of boreal forests: composition, emission rates, estimation of regional emission and photocatalytic transformation // Ecological Bulletins. – 1992. – P. 71-76. DOI: 10.1016/0960-1686(91)90087-N
5. Isidorov V. A. Organic chemistry of the earth's atmosphere. – Berlin : Springer-Verlag, 1990. – V. 215. – P. 215.
6. Zhou P. et al. Simulating ozone dry deposition at a boreal forest with a multi-layer canopy deposition model // Atmospheric Chemistry and Physics. – 2017. – V. 17. – №. 2. – P. 1361-1379. DOI: 10.5194/acp-17-1361-2017.

Молекулярно-генетические маркеры выносливости у единоборцев

О.А. Степанова

ПГНИУ

Научный руководитель – к.б.н., М.А. Данилова, ПГНИУ

Аннотация. Проведён анализ полиморфизма генов *ACE* и *BDKRB2* у каратистов и группы сравнения. Анализ взаимосвязи между аллельными вариантами генов изучаемых выборок установил достоверно значимые различия для генотипа *II* гена *ACE*.

Ключевые слова: гены *ACE* и *BDKRB2*, единоборцы, спортивная успешность.

При решении проблем спортивного отбора часто составляются неверные прогнозы успешности отдельных спортсменов. Это происходит, несмотря на солидный опыт педагогов и тренеров. Решить данную проблему могут современные методы спортивной генетики с помощью генетических маркеров [1]. Влияние генетической предрасположенности к проявлению физических качеств у единоборцев на спортивную квалификацию и длительность занятия спортом изучено у самбистов [2], дзюдоистов [3] и среди групп смешанных единоборств [4]. Ранее не проводилось сопоставление с группой сравнения влияния полиморфизмов генов на развитие качества «выносливость» у каратистов в возрасте 12–16 лет.

Цель работы – определить влияние полиморфизмов генов *ACE*, *BDKRB2* на развитие качества «выносливость» у единоборцев.

Молекулярно-генетический анализ проведен у группы каратистов, которая включала 44 спортсмена в возрасте 12–16 лет из МБОУ ДОД «СДЮСШОР по карате» г. Перми. Результаты генотипирования спортсменов предоставлены лабораторией генетических и геномных технологий кафедры ботаники и генетики растений [4]. Группа сравнения включала 44 человека в возрасте 12–16 лет из школ Дзержинского, Ленинского и Мотовилихинского районов г. Перми, не занимающихся спортом. Забор биологического материала (буккальный эпителий) проводили методом соскоба эпителиальных клеток ротовой полости. Родители (законные представители) всех несовершеннолетних испытуемых дали письменное согласие на добровольное участие в эксперименте.

ДНК выделяли сорбентным методом с помощью набора «Проба-ГС» (ООО «ДНК-Технология»). Амплификацию фрагментов ДНК проводили при помощи ПЦР. Продукты генов *ACE* и *BDKRB2* были фракционированы методом электрофореза в 2% агарозном геле.

Ген *ACE* (*Angiotensin-1 Converting Enzyme*) локализован в локусе 17q23.3, имеет два аллеля: I и D. Аллель I указывает на предрасположенность к развитию выносливости, а аллель D – к развитию силы и скорости реакции. Существует три генотипа: I/I, I/D и D/D (значение в порядке убывания для качества «выносливость») [5]. Ген *BDKRB2* (*Bradykinin Receptor b2*) картирован в локусе 14q32.1–q32.2, имеет два аллеля: -9 и +9. Аллель -9 отвечает за развитие качества «выносливость», а аллель +9 – за скоростно-силовые качества. Ген имеет три генотипа: -9/-9, -9/+9, +9/+9 (значение в порядке убывания для качества «выносливость») [6].

При молекулярно-генетическом анализе полиморфизма генов *ACE* и *BDKRB2* у единоборцев установлено, что генотип I/D гена *ACE* и генотип +9/+9 гена *BDKRB2* встречаются чаще всего с частотой 0,46 и 0,52 соответственно. Самый благоприятный генотип I/I, для развития качества «выносливость», выявлен у 8 спортсменов с частотой 0,18. Генотип -9/-9 не обнаружен. Анализ аллельных вариантов гена *ACE* и *BDKRB2* у группы сравнения показал, что генотипы D/D и +9/+9 наиболее распространены в выборке и встречаются с частотой 0,52 и 0,70 соответственно. Генотип I/I, обуславливающий максимальную выносливость, встречается только у 2 человек (0,05), а генотип -9/-9 не выявлен. Результаты демонстрируют недостаточную предрасположенность группы сравнения к качеству «выносливость». При сопоставлении частот генов *ACE*, *BDKRB2* у группы единоборцев и группы сравнения (табл. 1) оказалось, что статистически значимые различия для гена *BDKRB2* не констатированы. Однако различия значимы для генотипа I/I гена *ACE* ($F_{\text{оп}} 1,99 > 1,96$ при $p = 0,05$), данный генотип является маркерным для развития качества «выносливость» у каратистов в возрасте 12–16 лет.

Проведенное исследование полезно для разработки рекомендаций по корректировке тренировочного процесса единоборцев. Кроме того, рекомендации важны для подбора спортивной деятельности, при которой возможно достичь наиболее высоких результатов.

Таблица

Частоты генотипов генов *ACE* и *BDKRB2* у единоборцев
и группы сравнения (n = 88)

Ген	Генотипы	Частоты генотипов в группах		Всего (n = 88)	$F_{оп} < F_{st}$
		Группа единоборцы	Группа сравнение		
<i>ACE</i>	D/D	16 (0,36)	23 (0,52)	39 (0,44)	1,5 < 1,96
	I/D	20 (0,46)	19 (0,43)	39 (0,44)	0,29 < 1,96
	I/I	8 (0,18)	2 (0,05)	10 (0,12)	1,99 > 1,96
Ген	Генотипы	Частоты генотипов в группах		Всего (n = 88)	$F_{оп} < F_{st}$
		Группа единоборцы	Группа сравнение		
<i>BDKRB2</i>	+9/+9	23 (0,52)	31 (0,70)	54 (0,61)	1,7 < 1,96
	-9/+9	21 (0,48)	13 (0,30)	34 (0,39)	1,7 < 1,96
	-9/-9	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	-

Примечание: D/D, I/D, I/I – генотипы гена *ACE*; +9/+9, -9/+9, -9/-9 – генотипы гена *BDKRB2*; $F_{оп}$ – F-критерий Фишера, F_{st} – критерий Фишера стандартный равен 1,96 (при $p = 0,05$)

Библиографический список

1. Уманец В.А. Спортивная генетика // Курс лекций: учебное пособие. Иркутск: Ирк. фил. РГУФКСиТ, 2010. 129 с.
2. Бурлуцкая М.Ю. Влияние полиморфных вариантов генов на физические качества и результаты спортсменов, занимающихся единоборствами // Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии: материалы регион. молод. конф. Пермь, 2018. 76 с.
3. Вострикова А.В., Боронникова С.В., Закиров Р.М. Молекулярно-генетический анализ генов *ACTN3* и *AMPD1* у дзюдоистов спортивной школы по самбо и дзюдо «Витязь» г. Перми // Бюллетень науки и практики. 2020. №4. С. 27–36.
4. Vostrikova A. et al. Gene Polymorphism and Total Genetic Score in Martial Arts Athletes with Different Athletic Qualifications // Genes. 2022. Vol.13, №1677. P. 1–15.
5. Ахметов И.И. Молекулярная генетика спорта: состояние и перспективы // Педагогико-психологические и медико-биологические проблемы физической культуры и спорта. 2007. № 5. С. 87–103.
6. Ведяков А.М. и др. Анализ полиморфизма генов *ACE* и *BDKRB2* у спортсменов // Вестник спортивной науки. 2006. №1. С. 23–27.

Молекулярно-генетический анализ зимостойких сортов озимой ржи *Secale cereale* L.

И.А. Тарбеев¹, М.А. Данилова¹, А.И. Вшивкова¹, В.А. Печенкина¹, К.А. Марон^{2,3}

¹ПГНИУ

²Пермский НИИСХ – филиал ПФИЦ УрО РАН

³Уральский НИИСХ – филиал ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН

Аннотация. Проведен молекулярно-генетический анализ с использованием ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК трех зимостойких сортов *Secale cereale* L. из образцов, собранных в Пермском крае. У трех изученных сортов было выявлено 107 маркеров ISSR-PCR, из которых 99 (P95=0.9252) были полиморфными

Ключевые слова: *Secale cereale*, ISSR-PCR маркеры, генетическое разнообразие

Рожь (*Secale cereale* L., сем. *Poaceae*) является высокоадаптивной, зимостойкой зерновой культурой, которая может давать стабильные урожаи на различных почвах с разным уровнем плодородия и механическим составом [1]. Сохранение генетического разнообразия сортов культурных растений является важным условием для успешного развития сельского хозяйства [2]. Рожь опыляется перекрестно, и может давать гетерозисное потомство при скрещивании генетически далеких форм. Для определения таких форм используются ДНК-маркеры, которые помогают изучить генофонд исходного материала при создании сортов различных культурных растений, включая озимую рожь [3].

Цель данной работы – провести молекулярно-генетический анализ трех сортов *S. cereale* на территории Пермского края.

В 2022 году на опытном поле Пермского НИИСХ было собрано 90 образцов листьев 3 сортов (Янтарная, Вятка, Алиса). Отбирали подфлаговый лист (второй сверху), не пораженный болезнями и вредителями. Выделение ДНК 90 проб проводилось в соответствии с методом СТАВ с модификацией сорбирующего вещества [4, 5]. Качество и концентрацию ДНК определяли при помощи Spectrofotometr™ NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, USA). Для молекулярно-генетического анализа были отобраны четыре динуклеотидных (M1((AC)8CG), ISSR-5((AG)8CA), CR-215((CA)6GT), CR-218((GA)6CC)) и один тринуклеотидный ISSR-праймер (X-10((AGC)6C)). Амплификацию проводили в термоциклере «CFX96» (Bio-Rad, USA) по стандартной программе.

© Тарбеев И.А., Данилова М.А., Вшивкова А.И., Печенкина В.А., Марон К.А., 2024

Температура отжига в зависимости от G/C состава праймеров варьировала от 56 до 64°C.

Результаты электрофореза были сфотографированы в проходящем ультрафиолетовом свете и обработаны в системе гель-документации GelDoc. Определение длин фрагментов проводилось с использованием программы Image Lab. Компьютерный анализ полученных данных проводился с помощью программы POPGENE 1.31 и с помощью макроса GenAlEx6.5 для MS-Excel.

Таблица 1

Генетическое разнообразие трех популяций *S. cereale*

Показатели	Янтарная	Вятка	Алиса	Значения общей выборки
H_E	0,240 (0,020)	0,229 (0,020)	0,223 (0,018)	0,231 (0,011)
n_a	1,477 (0,078)	1,439 (0,078)	1,645 (0,060)	1,520 (0,042)
n_e	1,418 (0,037)	1,404 (0,039)	1,367 (0,033)	1,396 (0,021)
P_{95}	0.6729	0.6355	0.7196	0.9252
I	0.357 (0.028)	0.337 (0.029)	0.342 (0.025)	0,345 (0,016)
R	0	1	18	19

Примечание: H_E – ожидаемая гетерозиготность; n_a – абсолютное число аллелей на локус; n_e – эффективное число аллелей на локус; P_{95} – доля полиморфных локусов, I – информационный индекс Шеннона, R – число редких аллелей; в скобках указано стандартное отклонение

При проведении молекулярно-генетического анализа трех сортов *S. cereale* было выявлено 107 маркеров ISSR-PCR, из которых 99 ($P_{95}=0.9252$) были полиморфными (Таблица 1). Доля полиморфных локусов выше у сорта Алиса (0,7196), а ниже у Вятки (0,6355). Число ISSR-PCR маркеров варьировало в зависимости от праймера: от 17 (праймер CR-218) до 26 (праймер ISSR-5), а их размеры – от 190 до 1200 п.н. Средняя ожидаемая гетерозиготность (H_E) на общую выборку составила 0,231. Этот показатель наименьший у сорта Алиса, а именно 0,223, а наибольший у Янтарной – 0,240. Абсолютное (n_a) и эффективное (n_e) число аллелей на локус на общую выборку составляет 1,520 и 1,396 соответственно. Было обнаружено 19 редких фрагментов: 18 у сорта Алиса и 1 у Вятки.

На основании полученных данных можно судить о высоком генетическом разнообразии избранных сортов *S. cereale* ($P_{95} = 0.9252$; $H_E = 0,231$; $n_e = 1,396$). Среди сортов наибольшим разнообразием обладает сорт Янтарная ($P_{95} = 0.6729$; $H_E = 0,240$; $n_e = 1,418$), а наименьшим Алиса ($P_{95} = 0.7196$; $H_E = 0,223$; $n_e = 1,367$). Полученные данные могут быть использованы для генотипирования сортов ржи.

Библиографический список

1. Уткина Е. И., Кедрова Л.И., Набатова Н.А., Псарева Е.А., Парфенова Е.С. Урожайный потенциал сортов озимой ржи в условиях Волго-вятского региона // Успехи современного естествознания. 2020. №. 1. С. 12-17.
2. Орловская О. А., Корень Л. В., Хотылёва Л. В. ISSR-анализ образцов озимой тритикале (х *Triticosecale* Wittmack) различного эколого-географического происхождения // Доклады Национальной академии наук Беларуси. 2012. Т. 56. №. 2. С. 78-81.
3. Гордей И. С., Мандрусова В. С. Изучение генетического разнообразия современного генофонда озимой ржи (*Secale cereale* L.) Республики Беларусь с использованием SSR-маркеров // Молодежь в науке-2021. 2021. С. 159-163.
4. Rogers S.O. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. 1985. Vol. 1. № 19. P. 69-76.
5. Нечаева Ю.С., Бельтюкова Н.Н., Пришневская Я.В., Тайман К.Е. Оптимизация методики выделения ДНК некоторых хвойных видов растений Пермского края // Материалы междунар. конф. «Синтез знаний в естественных науках. Рудник будущего: проекты, технологии, оборудование». 2011. С. 278–282.

Генетическое разнообразие популяций сосны обыкновенной на Русской равнине и Среднем Урале

Н.В. Чертов, Я.В. Сбоева, Ю.И. Нечаева, С.В. Боронникова
ПГНИУ

Аннотация. Изучено генетическое разнообразие и структура 22-х популяций сосны обыкновенной на Руской равнине и Среднем Урале. Наибольшим генетическим разнообразием отличались популяции центральной части исследуемого региона, наименьшим – популяции западной части. Изученные популяции подразделяются на 5 групп в соответствии с их географическим положением, при этом наблюдается высокая степень дифференциации ($G_{ST} = 0,559$). Выявлена слабая корреляция ($R^2 = 0,2534$) между генетической и географической дистанциями с использованием теста Мантелла.

Ключевые слова: генетическое разнообразие, ISSR, *P. sylvestris*.

Генетическое разнообразие важно для долгосрочного выживания видов и играет решающую роль в их сохранении [1]. Для проявления адаптационного потенциала необходимо сохранение генетического разнообразия популяций, включая как типичные, так и специфические аллели для региона исследований. Генетическое разнообразие также связано с реакцией популяций на факторы окружающей среды. Таким образом, знание о генетическом разнообразии популяций и лежащих в ее основе индивидуальных и субпопуляционных компонентов, важно для сохранения и рационального использования генетических ресурсов, особенно в условиях глобальных изменений климата [2].

Сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), является вторым по распространенности хвойным видом в мире и имеет большое хозяйственное и экологическое значение. Сосновые леса покрывают 37 % общей площади суши в мире и порядка 70 % площади лесов в Северном полушарии, что делает сосну одной из важнейших лесообразующих пород в мире [3]. Для составления программ рационального использования лесных ресурсов необходимы знания о генетическом разнообразии, структуре популяций, произрастающих в зонах активной лесозаготовки. Таким образом, настоящая работа направлена на детальное изучение генетического разнообразия и генетической структуры природных популяций *P. sylvestris* в условиях их естественного произрастания в регионе исследований.

В качестве объектов исследований избраны 22 выборки сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.; Pinaceae). Изученные выборки *P. sylvestris* расположены на территориях Кочевского, Гаинского, Кишертского, Кудымкарского, Чердынского и Березниковского лесничеств, в Республике Коми на территории Локчимское и Сысольское лесничеств, в Архангельской области в Красноборском лесничестве, в Вологодской области в Великоустюгском лесничестве, в Костромской области в Пыщугском лесничестве, в Нижегородской области в Уренском лесничестве, в Республике Марий Эл в Руткинского и Кокшайского лесничеств, в Чувашской республике в Кирском лесничестве, в Ульяновской области в Инзенском лесничестве, и в Кировской области на территории Шабалинского, Ежихинского, Даровского, Юрьянского, Слободского и Белохолуницкого лесничеств. Сбор растительного материала осуществлялся с деревьев, расположенных на расстоянии не менее чем 50–150 м друг от друга.

Для проведения исследований собраны образцы тканей растений индивидуально с 30–46 деревьев в каждой из изучаемых выборок. Выделение ДНК проводили по методике для сложных биологических образцов [4]. Для оценки генетического разнообразия и генетической структуры популяций был использован ISSR (Inter Simple Sequence Repeats)-метод анализа полиморфизма ДНК [5]. Для проведения ПЦР с пробам ДНК были использованы ранее подобранные эффективные праймеры для *P. sylvestris*: ISSR-1 [(AC)8T]; CR-212 [(CT)8TG]; CR-215 [(CA)6GT]; M27 [(GA)8C]; X10 [(AGC)6C].

В результате исследования выявлен средний уровень генетического разнообразия выборок *P. sylvestris*. Наибольшее генетическое разнообразие в центральных выборках из Даровского, Юрьянского и Белохолуницкого лесничеств. Наименьшее генетическое разнообразие отмечается среди группы западных выборок из Пыщугского, Шабалинского, Ежизинского и Уренского лесничеств, что может быть связано с антропогенной нагрузкой, в частности активной лесозаготовкой.

Исследуемые выборки разделились на 5 кластеров, в соответствии с их географического расположения. Для всей выборки *P. sylvestris* индекс подразделенности составил 55,9% ($G_{ST} = 0,559$). Анализ AMOVA показал, что на различия между регионами приходится 40% разнообразия, на различия между популяциями 19% и на внутривнутрипопуляционные различия приходится 41% генетического разнообразия. При этом уровень подразделенности для разных групп различался, для выборок Среднего Урала он составил 15,5% ($G_{ST} = 0,155$), для Северных и Центральных выборок 21 и 25% соответственно. И наиболее дифференцированными оказались выборки из Западной и Южной групп 41 и 49 %

соответственно. Высокая дифференциация может быть связана с фрагментацией ареала *P. sylvestris* в исследуемом регионе. Слабая дифференциация популяций на Среднем Урале может быть связана со сходством местообитаний популяций

При изучении популяций *P. sylvestris* их пространственная и генетическая структура проверялась на соответствие модели «изоляция растоянием» с помощью теста Мантела. Таким образом, попарное сравнение всех двадцати двух исследованных популяций выявило наличие слабой положительной корреляции ($R^2 = 0,2534$) между географической и генетической дистанцией.

Полученные данные о генетическом разнообразии и структуре популяций, произрастающих в районах активных рубок, имеют важное значение для составления программ рационального использования лесных ресурсов.

Библиографический список

1. Frankham R. How closely does genetic diversity in finite populations conform to predictions of neutral theory? Large deficits in regions of low recombination // *Heredity* (Edinb). 2012. № 108. P. 167-178.
2. Pazouki L. et al. Large within-population genetic diversity of the widespread conifer *Pinus sylvestris* at its soil fertility limit characterized by nuclear and chloroplast microsatellite markers // *European Journal of Forest Research* 2015. № 135. P. 161-177.
3. Floran V., Sestras R.E., García Gil M.R. Organelle genetic diversity and phylogeography of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) // *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 2011. № 39. P. 317-322.
4. Kalendar R., Boronnikova S., Seppanen M. Isolation and purification of DNA from complicated biological samples // *Methods Mol Biol.* 2021. № 2222. P. 57-67.
5. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics.* 1994. № 20. P. 176-183.

СЕКЦИЯ «ЭКОФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ЭКОЛОГИЯ ПОЧВ»

Изменения содержания органических кислот в листьях пшеницы в условиях сощелочного стресса

А.К. Арисова

ПГНИУ

Научный руководитель – д-р биол. наук **О.З. Еремченко**, ПГНИУ

Аннотация. Проведена оценка влияния засоления и щелочности, а также их взаимного действия на варьирование показателей, связанных с развитием окислительного стресса (восстановленная аскорбиновая кислота), с осморегуляцией и рН-гомеостазом (органические кислоты).

Ключевые слова: солевой стресс, щелочной стресс, органические кислоты.

В условиях одновременного воздействия засоления и щелочности ответные реакции растений направлены на осморегуляцию, защиту от избытка засоряющих ионов и окислительных радикалов, а также на рН-регуляцию. Солевой и щелочной стресс рассматривают как разные типы стресса; одновременно отмечают, что воздействие щелочных солей на растение более негативное, чем нейтральных солей [1]. Исследователи отмечают сложность изучения отдельного эффекта токсичности солей от негативного влияния высоких рН на растение [2]. Цель исследования – в условиях комбинированного стресса определить вклад засоления и щелочности в изменение содержания некоторых органических кислот (восстановленной аскорбиновой кислоты, щавелевой, яблочной, янтарной, лимонной) в листьях пшеницы. Объектом являлась пшеница мягкая яровая (*Triticum aestivum* L.). Исследования проведены в двухфакторном эксперименте с воздействием NaCl-засоления (30 мМ, 70 мМ, 100 мМ, 150 мМ) и щелочности (рН 7, 8, 9, 10). Отбор растительных проб провели через 1, 4, 24 ч после стресс-воздействия. Определили восстановленную аскорбиновую кислоту – по Чупахиной, содержание щавелевой, лимонной, яблочной, янтарной – методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе «Dionex, Ultimate 3000». Данные эксперимента обрабатывались двухфакторным дисперсионным анализом с повторными измерениями (при уровне значимости нулевой

гипотезы $P < 0,05$), с определением влияния факторов на варьирование показателей по Снедекору. Расчеты проведены в пакете Stadia 8.0.

В основе адаптации растений к неблагоприятным условиям внешней среды является эффективное функционирование антиоксидантной системы [3]. Окислительный стресс у растений вызывается как избытком солей [4], так и щелочностью [5]. Устойчивость растений в условиях стресса в определенной степени связывают и с метаболизмом органических кислот. Органические кислоты участвуют в рН-гомеостазе, осмотической регуляции и балансе избытка катионов [6].

В первый час наблюдений выявили определенную факторную нагрузку в изменениях содержания восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях пшеницы (табл. 1). Показатель влияния концентрации NaCl в первый час наблюдений составил 4 % и увеличился до 17 % через 4 ч после стресс-воздействия. Обычно увеличение количества аскорбиновой кислоты, как и других ферментативных антиоксидантов, связывают с адаптацией растений к засолению [4]. Значимое влияние щелочности (26 %) отмечено только во второй период наблюдений. В первые два периода наблюдений варьирование содержания АК зависело от взаимного действия NaCl-засоления и щелочности на 17–20 %. Взаимное действие засоления и щелочности на изменения количества восстановленной аскорбиновой кислоты в первые два периода наблюдений (1 и 4 ч), возможно, связано с нарушением строения и функций мембран, как это было установлено в исследованиях влияния щелочных солей на растения [1,2]. Через сутки после стресс-воздействия такого значимого влияния факторов на содержание восстановленной аскорбиновой кислоты не было выявлено.

Таблица 1

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа содержания восстановленной аскорбиновой кислоты в листьях пшеницы в зависимости от NaCl-засоления (фактор NaCl), щелочности (фактор рН) и взаимодействия этих факторов (NaCl × рН)

Срок наблюдений	Факторы, сила влияния (%)		
	NaCl	рН	NaCl × рН
1 ч	4	-	20
4 ч	17	26	17
24 ч	-	-	-

Органические кислоты цикла Кребса. Влияние засоления и щелочности на изменчивость содержания яблочной кислоты в растениях осталось высоким (68–99 %) в течение всех периодов наблюдений (табл. 2).

Показатели отдельного влияния факторов засоления и щелочности, а также взаимное их действие на количество лимонной кислоты во все периоды наблюдений были примерно равными (28–33 %), а их общая факторная нагрузка на изменчивость содержания кислоты составляла 93–97 %. Общая факторная нагрузка на изменчивость содержания янтарной кислоты в листьях пшеницы по всем периодам наблюдений колебалась в пределах 71–97 %. Относительное снижение влияния факторов через 4 ч после стресс-воздействия было связано с уменьшением показателя отдельного влияния NaCl-засоления до 5 %. *Щавелевая кислота*. Через 1 ч после стресс-воздействия изменения в содержании щавелевой кислоты зависели от щелочности (33 %) и взаимного влияния засоления и щелочности (28 %); общая факторная нагрузка в варьировании содержания щавелевой кислоты составила 62 % (табл. 2). Через 4 ч после стресс-воздействия сила отдельного влияния засоления и щелочности была около 8 %, высоким осталось влияние взаимного их действия (33 %). Через 24 ч изменения содержания щавелевой кислоты определяла на 54 % общая факторная нагрузка.

Таблица 2

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа содержания органических кислот в листьях пшеницы в зависимости от NaCl-засоления (фактор NaCl), щелочности (фактор pH) и взаимодействия этих факторов (NaCl × pH)

Срок наблюдений	Кислота	Факторы, сила влияния (%)		
		NaCl	pH	NaCl × pH
1 час	Яблочная	6	32	30
	Лимонная	28	32	33
	Янтарная	32	22	32
	Щавелевая	2	33	28
4 часа	Яблочная	23	33	33
	Лимонная	31	33	33
	Янтарная	5	33	33
	Щавелевая	8	8	33
24 часа	Яблочная	33	33	33
	Лимонная	30	33	33
	Янтарная	28	33	33
	Щавелевая	21	16	17

Влияние NaCl-засоления на изменчивость содержания органических кислот цикла Кребса и щавелевой кислоты может быть обусловлено их

участием в осморегуляции. В условиях щелочного засоления накопление органических кислот в пшенице, рисе и подсолнечнике связывают с восстановлением осмотического баланса внутри растительных клеток [1]. В течение всех периодов наблюдений значимое влияние щелочности на изменчивость содержания органических кислот, вероятно, связано с их участием в регуляции рН внутренней среды растений. Изменения в метаболизме органических кислот принято рассматривать в качестве важнейшего адаптивного ответа растений при щелочном стрессе [1].

В условиях сощелочного стресса содержание яблочной, лимонной и янтарной кислот в листьях пшеницы в максимальной степени зависело от концентрации NaCl и щелочности. В меньшей степени эти факторы воздействовали на количество восстановленной аскорбиновой и щавелевой кислоты. Щелочность корневой среды в большей степени, чем концентрация NaCl, воздействовала на содержание органических кислот цикла Кребса и щавелевой кислоты в листьях пшеницы. Отмечена изменчивость содержания органических кислот, обусловленная взаимным действием засоления и щелочности, что связано, по-видимому, с тем, что влияние градаций одного из факторов зависит от того, на фоне какой градации другого фактора оно проявляется.

В результате анализа установлено, что в условиях комбинированного сощелочного стресса концентрация NaCl и щелочность в максимальной степени определяли варьирование содержания органических кислот цикла Кребса в листьях пшеницы. Несколько ниже показатель влияния факторов на содержание щавелевой кислоты. Факторная нагрузка на изменчивость содержания восстановленной аскорбиновой кислоты в первые часы была невысокой, через сутки действие факторов стало незначимым. Величина рН в несколько большей степени, чем концентрация NaCl, определяла изменчивость содержания органических кислот в листьях растений.

Библиографический список

1. Liu J., Shi D.-C. Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion and organic acid accumulations of sunflower in responses to salt and salt-alkaline mixed stress // *Photosynthetica*. 2010. Vol. 48, № 1. P. 127–134.
2. Genc Y., Taylor J., Lyons G. [et al.]. Bread wheat with high salinity and sodicity tolerance // *Frontiers in plant science*. 2019. Vol. 10. P. 1280.
3. Колупаев Ю. Е., Карпец Ю. В., Кабашникова Л. Ф. Антиоксидантная система растений: клеточная компартментация, защитные и сигнальные функции, механизмы регуляции (обзор) // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2019. Т. 55, № 5. С. 419–440.

4. Arif Y., Singh P., Siddiqui H. [et al.]. Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance // Plant. Physiol. Biochem. 2020. Vol. 156. P. 64–77.

5. Bhuyan M. H. M., Hasanuzzaman M., Mahmud J. A. [et al.]. Unraveling morphophysiological and biochemical responses of *Triticum aestivum* L. to extreme pH: Coordinated actions of antioxidant defense and glyoxalase systems // Plants. 2019. Т. 8, № 1. P. 24.

6. López-Bucio J., Nieto-Jacobo M. F., Ramírez-Rodríguez V., Herrera-Estrella L. Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils // Plant Sci. 2000. Vol. 160, № 1. P. 1–13.

Оценка эффективности рекультивации нефтезагрязненной почвы

М.В. Лесникова, О.З. Еремченко
ПГНИУ

Аннотация. Рекультивация почв направлена на устранение нефтезагрязнения и восстановление плодородия почвы. Проведена оценка эффективности восстановления темногумусовой и серогумусовой почв, загрязненных в результате аварийного разлива нефти в 2018 г и 2020 г. Содержание остаточной нефти в темногумусовой почве в несколько раз превышает допустимый региональный норматив; в серогумусовой почве содержание остаточной нефти находится в пределах нормы. По результатам фитотестирования темногумусовая почва через 1,5 года после нефтезагрязнения и проведения рекультивационных работ находится в неудовлетворительном экологическом состоянии; серогумусовая почва спустя 5 лет после нефтезагрязнения характеризуется хорошим экологическим состоянием. Одновременно в соответствии с показателем редокс-активности тест-культуры установлена умеренная фитотоксичность обеих почв.

Ключевые слова: нефтезагрязнение, рекультивация, фитотестирование

В настоящее время активно ведется поиск оптимального сочетания необходимых восстановительных мероприятий для рекультивации

нефтезагрязненных участков. Основные требования, выдвигаемые к рекультивационным работам: эффективность, экономичность и минимально возможное воздействие на окружающую среду. Под эффективностью следует понимать максимальное приближение загрязненного участка к естественным условиям (снижение содержания нефтепродуктов в почве, восстановление растительного покрова), либо к условиям, позволяющим использовать его по целевому назначению [1, 2]. Процесс восстановления почвы можно оценить не только по содержанию остаточных нефтепродуктов, но и по реакции высших растений [4].

Цель настоящего исследования – оценка эффективности восстановления темногумусовой и серогумусовой почв, рекультивированных после нефтезагрязнения.

Объектами исследований были серогумусовая и темногумусовая почвы, загрязненные нефтепродуктами в 2018 г. и 2020 г. соответственно, в результате аварии, вызванной несанкционированной врезкой в нефтепровод. На этапе технической рекультивации загрязненная растительность вместе с верхним слоем почв была вывезена для последующей ремедиации.

В июне 2022 г. на рекультивированных участках были отобраны почвенные пробы из слоя 0-20 см в 7-кратной повторности. Оценка экологического состояния и токсичности почвы проводилась по реакции кресс-салата; в качестве тест-контроля использовали растения кресс-салата, выращенные на вермикулите с питательным раствором Кнопа [4]. Содержание нефтепродуктов определили по ПНДФ 16.1:2.2.:2.3:3.64-10. Остаточное содержание нефтепродуктов оценили относительно норматива допустимого остаточного содержания нефтепродуктов для данного типа почвы [5].

Содержание остаточной нефти во всех пробах темногумусовой (дерново-карбонатной) почвы (рис. 1) превышало допустимое остаточное содержание нефтепродуктов относительно норматива для дерново-карбонатных почв Пермского края [4], который составляет 2500 мг/кг почвы. Следовательно, технический этап рекультивации не обеспечил снижения нефтесодержания в почве до уровня, допустимого для соответствующего типа почвы.

В серогумусовой почве содержание остаточной нефти не превышало нормативное содержание нефтепродуктов (рис. 2), равное 1000 мг/кг [4].

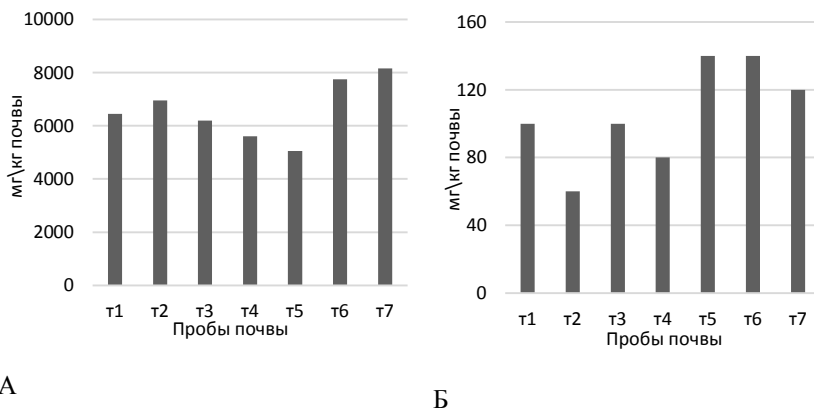


Рис. 1. Остаточное содержание нефтепродуктов в темногумусовой (А) и серогумусовой (Б) почве, мг/кг

По результатам фитотестирования темногумусовая почва через 1,5 года после нефтезагрязнения и проведения технического этапа рекультивационных работ находится в неудовлетворительном экологическом состоянии; при повышении показателя редокс-активности растений на 14% верхний слой почвы является умеренно токсичным (табл. 1).

В соответствии с реакцией кресс-салата серогумусовая почва, рекультивированная после нефтеразлива в 2018 г., в настоящее время находится в хорошем экологическом состоянии; однако, редокс-активность, повышенная на 19% относительно тест-контроля, свидетельствует об умеренной токсичности слоя почвы 0-20 см (табл. 1).

Таблица 1
Результаты фитотестирования рекультивированных почв (слой 0-20 см), % к тест-контролю

Почва	Длина надземной части	Масса надземной части	Редокс-активность
Темногумусовая	73	51	115
Серогумусовая	106	103	119

Библиографический список

1. Оборин А.А., Хмурчик В.Т., Иларионов С.А., Маркарова М.Ю., Назаров А.В. Нефтезагрязненные биогеоценозы. Пермь, 2009. 511 с.
2. Васильченко А.В. Рекультивация нефтезагрязненных земель. Оренбург, 2017. 124 с.

3. Черняховский Э.Р., Шкидченко А.Н., Юматова О.А., Чушкина З.Ю. Применение различных технологий при ликвидации последствий аварийных разливов нефти, нефтепродуктов и продуктов переработки нефтесодержащих отходов // Проблемы безопасности и чрезвычайных ситуаций. 2004. № 6. С. 27-29.

4. Еремченко О.З., Митракова Н.В. Способ оценки биологической активности и токсичности почв и техногенных почвогрунтов: патент РФ № 2620555. 2017.

5. Постановление Правительства Пермского края №813-п от 20.12.2018 (с изменениями на 23 декабря 2020 года) «Об утверждении региональных нормативов допустимого остаточного содержания нефти и продуктов ее трансформации в почвах Пермского края и Порядка их применения».

Реакция растений *Avena sativa* и *Triticum aestivum* на комбинированное воздействие засоления NaCl и разной кислотно-щелочной реакции корневой среды

А.Д. Мальцева, О.А. Четина
ПГНИУ

Аннотация. Изучена ответная реакция растений *Avena sativa* и *Triticum aestivum* на комбинированное воздействие засоления NaCl и кислотно-щелочного стресса по накоплению малондиальдегида и содержанию воды в листьях растений. Наибольшие отклонения от контрольного варианта и первоначальных измерений были отмечены в условиях кислой реакции корневой среды.

Ключевые слова: засоление, малондиальдегид, окислительный стресс.

Засоление почв является одной из основных экологических и социально-экономических проблем во всем мире [1]. В природных и техногенных ландшафтах засоление почв может сопровождаться изменением реакции корневой среды от сильнокислых до щелочных значений [2]. Негативное воздействие при засолении оказывает не только физиологическая засуха, вызванная снижением водного потенциала почвенного раствора, но и сами засоляющие ионы оказывают токсическое действие на клеточный метаболизм [3].

Целью исследования являлось изучение реакций *Avena sativa* L. и *Triticum aestivum* L. на комбинированное воздействие засоления NaCl и разной кислотнo-щелочной реакции корневой среды по изменению содержания воды и малондиальдегида (МДА) в листьях растений.

Объектами исследования являлись *A. sativa* сорта Стайер, *T. aestivum* сорта Горноуральский. На 7 день после появления всходов растения подвергали воздействию стресс-факторов путем полива растворами, сочетающими различный уровень pH (pH3, pH7, pH10) и засоление NaCl 150 мМ. Контрольным являлся вариант с pH7 без засоления. Сбор материала проводили через 2, 4, 6, 24, 48, 72 часа после стресс-воздействия. Срезанный материал взвешивали и сушили в сушильном шкафу при температуре 80° С. Высушенный материал снова взвешивался, высчитывался процент потери воды. Перекисное окисление липидов определяли по количеству соединений, взаимодействующих с тиобарбитуровой кислотой в пересчете на МДА. Данные статистически обрабатывались в программе STADIA с применением методов описательной статистики, критериев сдвига/положения для определения достоверности различий между вариантами.

По содержанию воды наибольшее отклонение от контроля у изучаемых растений были отмечены в условиях кислой реакции корневой среды, как с засолением, так и без него. У пшеницы достоверное уменьшение содержания воды было отмечено, начиная с 24 часов после воздействия стресс-фактора, а у овса с 2 часов и к концу эксперимента отклонение составило около 15% от контроля у обоих растений. На фоне щелочной реакции корневой среды отклонения от контроля были менее значительные, статистически значимое уменьшение количества воды отмечено начиная с варианта 24 часа у пшеницы и с варианта 4 часа у овса, а через 72 часа после воздействия стресс-фактора отклонение от контроля составило 3% у пшеницы, 9% у овса. В условиях засоления и щелочной реакции корневой среды отклонение от контроля варьировало в меньшую сторону в пределах 1,2–2,1% у пшеницы и 1,5–3,8% у овса. Наименьшее отклонение от контрольного варианта было отмечено в варианте pH7+NaCl, где содержание воды варьировало на 1–2% как в большую, так и в меньшую сторону. Как кислая, так и щелочная реакция корневой среды вызывают изменения в структуре корня, что приводит к водонепроницаемости клеток корня [4, 5].

У пшеницы и овса также измеряли содержание МДА, максимальные концентрации были отмечены в условиях кислой реакции корневой среды, у овса посевного в варианте pH3 концентрация МДА достоверно отличалась от контроля, начиная с 6 часов после стресс-воздействия и через 72 часа достигла максимума (выше контроля в 7 раз). У пшеницы

достоверное увеличение концентрации МДА относительно контроля было отмечено через 6 часов после воздействия стресс-фактора, на протяжении всего эксперимента концентрация продолжала расти и достигла максимума через 72 часа (выше контроля в 1,8 раз). В варианте рН3+NaCl также было отмечено увеличение концентрации МДА относительно контроля на всем протяжении эксперимента у овса и пшеницы, которое к концу эксперимента было выше в 4,6 и 1,6 раз соответственно. В условиях щелочной реакции среды в листьях овса посевного отмечено достоверное увеличение концентрации МДА через 24 и 72 часа после стресс-воздействия, в остальные промежутки увеличение концентрации не отмечено. В листьях пшеницы мягкой было отмечено увеличение содержания МДА в вариантах 2, 6, 48 часов, но затем концентрации стала ниже контрольной, что, вероятнее всего, связано с работой антиоксидантной системы [6]. Засоление на нейтральном и щелочном фоне не вызывало заметного повышения уровня МДА в листьях растений.

Таким образом, в ходе наших исследований обнаружено, что не только засоление, но и рН уровень корневой среды влияют на содержание воды в клетках растений. Наибольшие потери воды отмечены при действии кислой реакции корневой среды, как отдельного фактора, так и в сочетании с засолением. Минимальные изменения в количестве воды зафиксированы при воздействии засоления на фоне рН 7. Наибольшее проявление окислительного стресса по уровню МДА у растений также отмечено на фоне кислой реакции корневой среды, как в сочетании с засолением, так и без него. Засоление на фоне нейтральной реакции среды не вызывало увеличение уровня МДА у обоих злаков. По-видимому, засоление в дозировке 150 мМ NaCl не вызывает перекисного окисления липидов. При засолении на фоне рН 3 и рН 10 количество МДА снижалось по сравнению с этих же вариантами рН среды, но без засоления, что, скорее всего, обусловлено стимулирующим эффектом NaCl.

Библиографический список

1. Некрасов Р.В., Шеуджен А.Х., Байбеков Р.Ф., Аканова Н.И., Шуркин С.И. Агроэкономические и экологические аспекты химической мелиорации засоленных почв // Земледелие. 2021. № 8. С. 3–7.
2. Еремченко О.З., Митракова Н.В., Шестаков И.Е. Природно-техногенная организация почвенного покрова территории воздействия солеотвалов и шламохранилищ в Соликамско-Березниковском экономическом районе // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2017. Вып. 3. С. 311–320.

3. Яковец О.Г., Прищик А.В. Влияние хлорида натрия на ростовые характеристики проростков озимой пшеницы // Актуальные проблемы изучения и сохранения фито- и микобиоты: материалы IV междунар. науч.-практ. конференции, приуроченной к 100-летию кафедры ботаники, БГУ, 31 мая 2021 г. Минск, 2021. С. 236–240.

4. Захарин А.А., Паничкин Л.А. Модель протонного барьера. Полная односторонняя непроницаемость клеток корня для воды под влиянием избытка протонов в апопласте // Известия ТСХА. 2005. №3. С. 69–81.

5. Yang, C. et al. Comparative effects of salt stress and alkali-stress on the growth, photosynthesis, solute accumulation, and ion balance of barley plants // Photosynthetica. 2009. Vol. 47. P. 79–86.

6. Latef A.A.A., Tran L.S. Impacts of priming with silicon on the growth and tolerance of maize plants to alkaline stress // Front. Plant Sci. 2016. Vol. 7. P. 243–253.

Оценка экологического состояния аллювиальных почв в долинах рек Толыч и Зырянка (Промканал, г. Березники) методом фитотестирования

Н.В. Москвина, К.М. Канафеева
ПГНИУ

Аннотация. Фитотестирование показало крайнюю токсичность аллювиальных почв в долинах рек Толыч и Зырянка, подвергающихся периодическому затоплению водами Промканала (г. Березники). Почвы высоких берегов, находящиеся на расстоянии 10–12 м от воды, не токсичны для растений.

Ключевые слова: аллювиальные почвы, техногенное засоление, токсичность, фитотестирование

Техногенное засоление почв является серьезной экологической проблемой. В Пермском крае разрабатывается Верхнекамское месторождение солей, которое является источником вторичного засоления почвенного покрова [1]. Методом фитотестирования установлено преимущественно экологически опасное состояние солончаковых почв и вторичных солончаков в технопедагокомплексах на аллювиальных породах,

находящихся под воздействием соленых вод месторождения и включающих в разной степени засоленные аллювиальные почвы и вторичные солончаки [2].

Однако Верхнекамское месторождение калийных солей – не единственный источник техногенного засоления аллювиальных почв. Минерализованные сточные воды предприятий Березниковско-Соликамского промышленного узла, сбрасываемые в Промканал г. Березники, являются источником поступления легкорастворимых солей в аллювиальные почвы в долине Промканала [3].

Целью работы была оценка экологического состояния аллювиальных почв в долине рек Толыч и Зырянка (Промканал, г. Березники) методом фитотестирования.

Оценка токсичности и биологической активности почв проводилась в поверхностных (0-10 см) слоях аллювиальных почв согласно патенту О.З. Еремченко и Н.В. Митраковой (2017) [4] по реакции кресс-салата. В качестве тест-контроля использовали растения, выращенные на вермикулите и на почве с контрольного участка. Замеры высоты и массы 10-дневных проростков кресс-салата проводились в 30-кратной повторности. Все полученные данные были обработаны с применением программы для статистической обработки данных PAST.

Образцы поверхностных слоев почвы отбирали на 7 участках: контрольный заложен на берегу залива р. Затолыч; участки Сода-1 и Сода-2 – ниже по течению от места разгрузки сточных вод АО «БСЗ» и ООО «Сода-Хлорат»; участки Азот-1 (выпуски 1 и 4) и Азот-2 (выпуски 2 и 3) – в местах выходов коллекторов филиала «Азот»; участок Высокий берег – на высоком берегу р. Толыч вблизи впадения ее в ковш-отстойник; участок Ковш-отстойник – на берегу ковша-отстойника вблизи станции перекачки вод Промканала в р. Каму. На расстоянии 5–12 м от воды на многих участках Промканала сделана обваловка (основание из карбонатного щебня, засыпанное почвогрунтом). Высота обваловки – от 1 до 3 м. На каждом из участков пробы поверхностных горизонтов почв и ТПО отбирались в 5 точках на расстоянии 0–4 м от воды и на обваловке (10–12 м от воды).

Исследования показали, что растения, выращенные на вермикулите и почве с контрольного участка, не имели достоверных различий по высоте. На пробах почвы с участков Сода-1, Сода-2, Азот-2, взятых в местах, где периодически разливается вода реки, растения даже не взошли, что свидетельствует о ее крайней фитотоксичности (рис. 1).

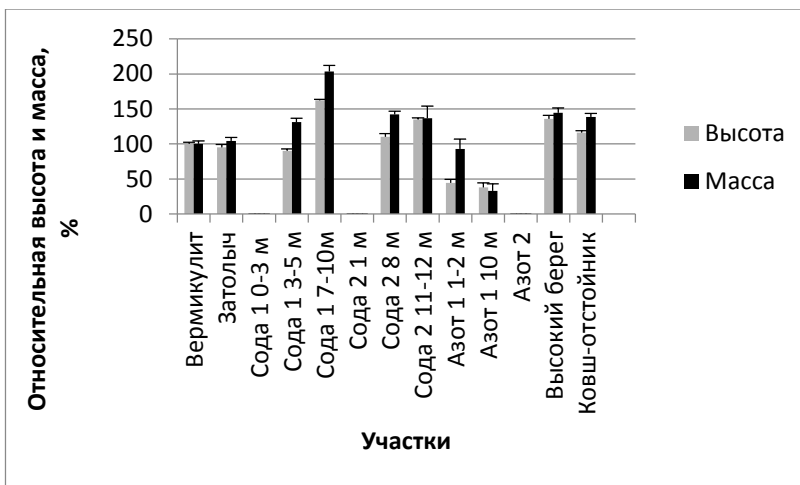


Рис. 1. Относительная высота и масса кресс-салата

На участке Азот-1 пробы, взятые у воды и на обваловке, оказались токсичны для тест-культуры, высота кресс-салата достоверно ниже по критерию Стьюдента, чем на контроле (вермикулите и почве с Затолыча). Снижение высоты тест-культуры более чем на 50% относительно контроля на вермикулите, согласно патенту Еремченко-Митраковой свидетельствует о сильной токсичности почвы.

В пробах с обваловки участков Сода-1 и Сода-2, Высокий берег фитотоксичность не проявилась. Высота растений в некоторых точках не имела достоверных отличий от контроля, или даже превышала высоту растений на контроле.

По массе растений были получены аналогичные закономерности (рис. 1). Можно отметить, что масса растений оказалась более устойчива к токсичности почв, чем высота. В точках, где не было достоверных отличий по высоте от контроля, масса достоверно превышала массу контроля.

Судя по показателям тест-культуры, поверхностные слои почвы с берегов участка Ковш-отстойник (конечный участок Промканала, из которого осуществляется выпуск вод в Каму через станцию перекачки) имеют удовлетворительное экологическое состояние.

В целом можно сделать вывод, что фитотоксичность почвы проявляется на расстоянии до 10 м от воды, что, по-видимому, связано с разливом воды в период половодья. Рельеф оказывает существенное влияние на токсичность почвы: почва участков, которые не подвергаются затоплению, не токсична для растений.

Библиографический список

1. Еремченко О.З., Четина О.А., Кусакина М.Г., Шестаков И.Е. Техногенные поверхностные образования зоны солеотвалов и адаптация к ним растений. Пермь: Пермский государственный национальный исследовательский университет, 2013. 148 с.

2. Митракова Н.В. Оценка биологической активности и токсичности почв и техногенных поверхностных образований в Пермском Прикамье: автореф. дисс. канд. биол. наук. Тюмень, 2019. 18 с.

3. Зотова С.А., Яценко Д.В., Москвина Н.В. Вторично засоленные аллювиальные почвы и ТПО в долине реки Толыч // Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии. ПГНИУ, Пермь. 2022. С. 67-70.

4. Еремченко О.З., Митракова Н.В. Способ оценки биологической активности и токсичности почв и техногенных почвогрунтов: пат. Рос. Федерации № 2620555. 2017.

Изменение активности аскорбатпероксидазы в условиях комбинированного солевого и щелочно-кислотного стрессов

Д.Л. Хлебова, О.А. Четина
ПГНИУ

Аннотация. Представлены результаты исследований по активности аскорбатпероксидазы в листьях овса при различном сочетании факторов засоления и рН корневой среды. Отмечено повышение активности аскорбатпероксидазы, как при воздействии отдельных факторов, так и комбинированного солевого и щелочно-кислотного стрессов.

Ключевые слова: аскорбатпероксидаза, засоление, рН-уровень корневой среды

В природных и техногенных ландшафтах засоление почв может сопровождаться как повышением рН до щелочных значений, так и понижением – до сильнокислых. При этом растения испытывают комплексный солевой и щелочно-кислотный стресс, а адаптивные механизмы направлены на осморегуляцию, защиту от избытка засоляющих ионов, окислительных радикалов и рН-регуляцию [1]. Для защиты от окислительного стресса растительные клетки содержат конъюгированные ферменты, динамика которых меняется в зависимости от степени воздействия стресса [2]. Одним из таких ферментов является аскорбатпероксидаза (АПО), локализованная в хлоропластах, митохондриях, микро-

тельцах и цитозоле. Действие АПО по обезвреживанию H_2O_2 осуществляется через аскорбатглютатионовый цикл с использованием аскорбиновой кислоты в качестве донора электронов [3].

Целью нашей работы являлось изучение активности аскорбатпероксидазы в листьях овса посевного при раздельном и комбинированном действии NaCl-засоления и разного уровня pH корневой среды.

В качестве объекта исследования использовали овес посевной *Avena sativa* L. сорт Стайер. Семена тест-растений выращивали в контейнерах в условиях модельного опыта при температуре 25°C и длине светового дня – 18 часов, в качестве субстрата использовали вермикулит. На 7 день после появления всходов растения подвергали воздействию стресс-факторов, в качестве которых использовали растворы с различными значениями pH (pH 3, pH 7, pH 10) и засолением NaCl в концентрации 150 мМ. Кислую среду растворов (pH 3) создавали ацетатным буфером, щелочную среду (pH 10) – боратным буфером. Реакцию среды в вермикулите контролировали путем измерения на иономере в течение 72 ч; через 72 ч кислотность и щелочность среды изменялись в нейтральную сторону на $\pm 1,5$ pH. Контрольным являлся вариант с pH 7 без засоления.

После стресс-воздействия через определенные интервалы времени (4, 24, 48 ч) отбирали пробы листьев для оценки активности АПО. Определение активности АПО было выполнено по модифицированному методу Nakano, Asada, основанному на регистрации снижения оптической плотности раствора при окислении аскорбата [4].

Результаты наших исследований показали, что засоление на фоне нейтральной среды вызывало снижение активности АПО на 19 % через 4 часа после стресс-воздействия, через 24 и 48 часов значимых отличий с контрольным вариантом не обнаружили (рис. 1).

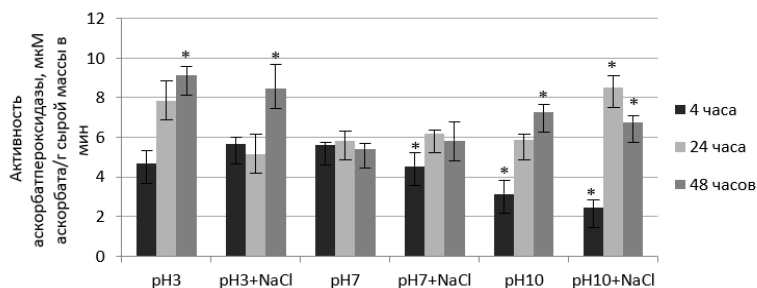


Рис. 1. Активность аскорбатпероксидазы в листьях овса при раздельном и комбинированном воздействии засоления и разных уровней pH корневой среды. Звездочкой отмечены статистически значимые различия с контрольным вариантом в каждый временной интервал

На фоне кислой среды, как с засолением, так и без него, статистически значимое увеличение активности АПО в 1,6–1,7 раз зафиксировали через 48 часов после воздействия стресса.

При воздействии щелочной среды, как в сочетании с засолением, так и без него, в первые 4 часа наблюдалось снижение активности АПО в 1,8–2,3 раза в сравнении с контрольным вариантом. Через 24 часа после стресс-воздействия в опытном варианте рН 10 активность фермента была на уровне контрольного варианта, а в варианте рН 10 + NaCl в 1,5 раза больше. Через 48 часов при воздействии рН 10, как с засолением, так без него, активность АПО была выше на 24 и 34% соответственно, чем в варианте рН 7.

В ряде исследований показано, что в стрессовых условиях у растений повышалась активность АПО, в то время как другие ученые отмечали снижение активности [5]. Изменение активности фермента может быть связано с уровнем мРНК, количеством самого фермента или с измененными кинетическими свойствами ферментов. Кроме того, изменения активности АПО зависят от вида растений, сорта, органа и степени стресса [5].

Увеличение активности АПО отмечается при воздействии различных типов стресса: засоления, засухи, экстремальных температур и др. [5]. Для того, чтобы обеспечить защиту от окислительного стресса, ферментативные и неферментативные компоненты антиоксидантной системы функционируют взаимосвязанно. Поддерживая окислительно-восстановительное равновесие в условиях стресса, АПО объединяет эти пути. Считается, что в условиях стресса АПО более эффективно справляется с обилием H_2O_2 , чем каталаза, т.к. встречается в разных компартаментах клетки и имеет более сильное родство к H_2O_2 [3].

Таким образом, не только засоление, но и уровни рН оказывают влияние на активность АПО. Наибольшая активность этого фермента отмечена на фоне кислой корневой среды, как в сочетании с засолением, так и без него, через 48 ч после стресс-реакции. Засоление на фоне нейтральной среды вызывало небольшое снижение активности только в первый срок наблюдения. На фоне щелочной реакции корневой среды, как с засолением, так и без него, в первые 4 ч зафиксировано снижение активности фермента, к 24 часам активность восстановилась, в варианте рН 10 до уровня контроля, а в варианте рН 10 + NaCl стала в 1,5 раза больше. Через 48 часов при воздействии рН 10, как с засолением, так без него, активность была выше на 24 и 34% соответственно.

Библиографический список

1. Четина О.А., Мальцева А.Д. Изменение содержания малондиальдегида и глицинбетаина в листьях растений при воздействии засоления

NaCl в сочетании с разным уровнем pH корневой среды // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2023. № 1 (41). С. 3-15.

2. Карташов А.В., Шевяков Н.И., Кузнецов В.В. Роль систем антиоксидантной защиты при адаптации дикорастущих видов растений // Физиология растений. 2008. Т. 55, № 4. С. 516–522.

3. Kesawat M.S., Satheesh N., Kherawat B.S. et al. Regulation of Reactive Oxygen Species during Salt Stress in Plants and Their Crosstalk with Other Signaling Molecules – Current Perspectives and Future Directions // Plants. 2023. Vol. 12. P. 864.

4. Nakano Y., Asada K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts // Plant Cell Physiol. 1981. Vol. 22. P. 867-880.

5. Pang C.H., Wang B.S. Role of ascorbate peroxidase and glutathione reductase in ascorbate–glutathione cycle and stress tolerance in plants // Ascorbate-Glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants. 2010. P. 91–113.

Влияние NaCl-засоления на содержание неорганических и органических осмолитов в побегах и корнях проростков гороха

Л.А. Чудинова, В.В. Пономарева
ПГНИУ

Аннотация. Исследовали динамику содержания некоторых неорганических (ионы хлора) и органических (пролин) осмолитов и их роль в осморегуляции в побегах и корнях проростков гороха (сорт Красноуфимский) в процессе адаптации к хлоридному засолению (0,5% и 1,0% растворы NaCl в течение 3, 6 и 9 суток). Установили, что осмотическая регуляция более эффективна при сильном засолении и имеет органную специфичность. При этом вклад неорганического осмолита был заметно выше, чем органического.

Ключевые слова: проростки гороха, NaCl-засоление, осмолиты.

Актуальность проблемы солеустойчивости растений определяется тем, что засоление почвы снижает как продуктивность, так и биоразнообразие фитоценозов [1]. Значительная часть засоленных территорий

возникла естественным путем в зонах с засушливым климатом в результате накопления солей, главным образом, за счет выветривания родительских пород. Другой причиной избыточного засоления почв является интенсивная антропогенная деятельность, в первую очередь, орошение. В связи с этим активно изучаются механизмы адаптации растений на молекулярном и молекулярно-генетическом уровне. В частности, установлено, что в основе негативного действия высоких концентраций солей лежит нарушение осмотического статуса и ионного гомеостаза, а также проявление токсического действия неорганических ионов на клеточный метаболизм [2]. Известно, что резкое понижение водного потенциала почвенного раствора в условиях засоления приводит к снижению поступления воды в клетки корня и падению тургора. Для восстановления градиента водного потенциала между почвенным раствором и клетками корня растение, как правило, активно поглощает неорганические ионы и секвестрирует их в центральной вакуоли. Для выравнивания водного потенциала между основными клеточными компартментами в цитоплазме синтезируются совместимые осмолиты, такие как аминокислоты, сахароспирты и четвертичные амины [3].

Целью нашей работы было исследование динамики некоторых неорганических (ионы хлора) и органических (пролин) осмолитов и их роль в осмотической регуляции в корнях и побегах проростков гороха (сорт Красноуфимский) при действии возрастающего NaCl-засоления.

9-ти дневные проростки гороха, выращенные в контейнерах в вермикулите, подвергали действию стресс-фактора – 0,5% и 1,0% NaCl в течение 3, 6 и 9 суток. Реакцию растений на солевой стресс оценивали по ростовым показателям (сырая масса побегов и объем корней в 20-ти кратной повторности) и физиологическим показателям: количество ионов хлора определяли меркурометрическим методом [4], содержание пролина – по модифицированному методу L.S. Bates et al [5], повторность анализов – 3х кратная.

При оценке устойчивости сортов и видов растений к различным экологическим факторам среды наиболее широко используются методы, в основе которых лежит реакция ростовых процессов, поскольку интенсивность роста выступает как интегральный процесс, отражающий итог всех функциональных и метаболических изменений в растении [3].

В нашем эксперименте изучение динамики ростовых процессов показало, что NaCl-засоление в исследуемых концентрациях негативно повлияло на прирост биомассы побегов (снижение на 24% от контроля) и особенно корней (снижение на 50% от контроля) в условиях 3х суточной экспозиции. С увеличением продолжительности солевой экспозиции до 9 суток интенсивность роста побегов возросла на 14% от контроля, а корней – оставалась на 23% ниже контроля. Это указывает на

развитие осмотической регуляции на этапе специализированной адаптации к засолению, которое, по-видимому, более эффективно осуществляется в побегах, чем в корнях.

Осмотическую регуляцию определяют, как понижение осмотического потенциала клеточного сока в результате накопления осмолитов в клетках для предотвращения потери воды [6, 7]. Почти исключительно за счет эффективного функционирования системы осморегуляции растение может сохранять водный статус в условиях засоления [8]. В связи с этим, косвенным показателем осмотической регуляции может служить оводненность растительных тканей. Полученные нами результаты (таблица) показали несущественное изменение оводненности побегов и корней гороха во всех вариантах эксперимента. Это свидетельствует о том, что исследуемые нами проростки гороха обладают выраженной способностью поддерживать водный баланс в условиях солевого стресса.

В литературе приводятся данные о том, что при слабом и среднем солевом стрессе растения картофеля сохраняли водный гомеостаз за счет эффективной осморегуляции [3]. Решающую роль в формировании осмотического потенциала клеточного содержимого при засолении играют неорганические ионы, прежде всего ионы натрия, калия и хлора. Нами было проанализировано содержание свободных ионов хлора в проростках гороха. Как следует из полученных данных (рис. 1) при возрастании солевой концентрации наблюдалась тенденция аккумуляции ионов хлора в побегах и корнях. При этом в условиях 3х и 6-ти суточной солевой экспозиции больше хлора накапливалось в корнях, а при 10-ти суточной – в побегах.

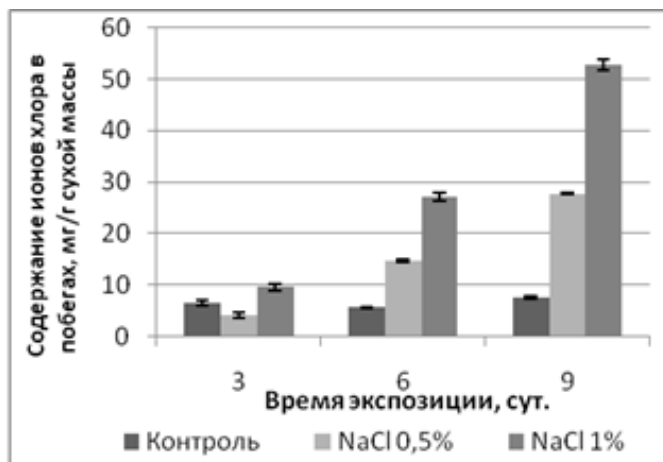
Таблица

Влияние солевого стресса на оводненность побегов и корней проростков гороха, %

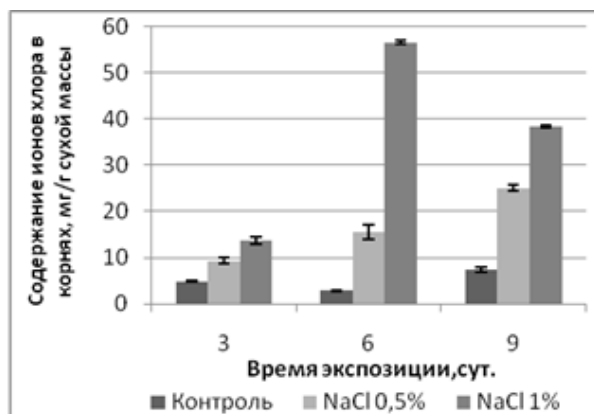
Время экспозиции, сут.	побеги			корни		
	3	6	9	3	6	9
контроль	91,1	92,2	91,7	94,7	95,2	95,2
0,5 % NaCl	90,7	92,0	91,9	94,7	95,3	95,2
1,0 % NaCl	90,9	91,9	91,0	94,3	95,7	94,3

Накопление низкомолекулярных защитных соединений, которые отличаются полифункциональностью, в настоящее время считается одним из ключевых механизмов адаптации к абиотическим стрессорам разной природы [9]. К таким соединениям, в частности, относится пролин. Особое значение эти соединения как осмолиты имеют при действии стрессоров, которые вызывают обезвоживание растительных клеток – засуха, засоление среды. Однако их функции не ограничиваются осмопротекторным действием. Об этом свидетельствует тот факт, что

пролин при стрессе выполняет роль не только осморегулятора, но и реализует целый ряд других стресс-протекторных функций, таких как функции химического шаперона, антиоксиданта, регулятора экспрессии стресс-регулируемых генов, внутриклеточного рН-стата, источника углерода, азота и восстановительных эквивалентов [9].

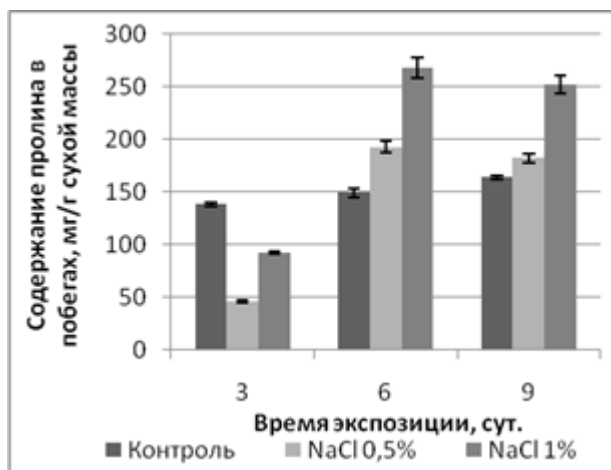


А

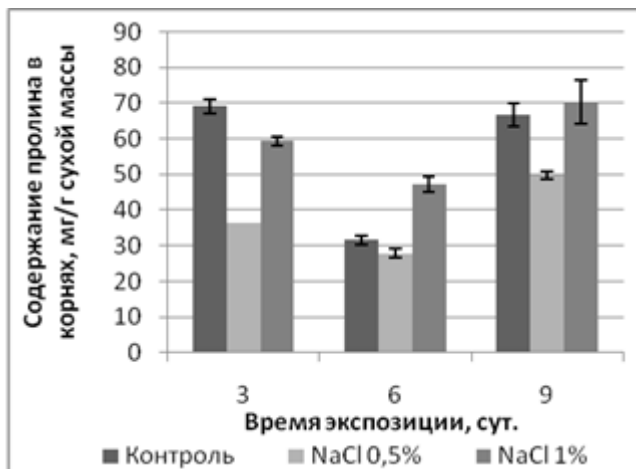


Б

Рис. 1. Влияние солевого стресса на содержание ионов хлора в побегах (А) и корнях (Б) проростков гороха



А



Б

Рис.2. Влияние солевого стресса на содержание пролина в побегах (А) и корнях (Б) проростков гороха

Как показали наши результаты, уровень пролина в нормальных условиях, а также во всех засоленных вариантах опыта был значительно выше в побегах, чем в корнях (рис. 2). Динамика пролина в зависимости от времени солевой экспозиции имела органный специфичность. Так, при 3х суточной экспозиции (развитие первичной стрессовой реакции) содержание пролина снижалось в корнях и более существенно в побегах. С увеличением времени экспозиции до 6-ти и 9-ти суток (развитие специфической адаптации) содержание пролина существенно увеличивалось только в побегах (на 50–80 % от контроля), тогда как в корнях наблюдался колебательный характер динамики этого показателя относительно контроля. Можно предположить, что в корнях при повышении концентрации NaCl роль неорганических ионов повышалась, а органических – ослабевала,

тогда как в листьях наблюдали обратную зависимость. Показанные нами различия в степени участия осмолитов в осмотической регуляции побегов и корней проростков гороха могут быть связаны с функциональным различием этих органов, а именно, с низкой адсорбцией и накоплением неорганических ионов при высоком уровне фотосинтеза в побегах и обратной ситуации в корнях

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что проростки гороха сорта Красноуфимский обладали выраженной способностью поддерживать водный баланс, о чем свидетельствует сохранение оводненности тканей корня и побега при всех исследованных интенсивностях хлоридного засоления. Вместе с тем осмотическая регуляция была более эффективна при более сильном хлоридном засолении и имела органный специфичность. При этом вклад неорганического осмолита (ионы хлора) в осмотическую регуляцию выше, чем органического (пролин), что согласуется с имеющимися данными в литературе [10]. Снижение дополнительного токсического эффекта неорганических ионов, таких как Na⁺ и Cl⁻ в условиях умеренного засоления, как предполагают данные авторы, может достигаться путем компартиментации этих ионов в вакуоли корней и листьев.

Библиографический список

1. Франко О.Л., Мело Ф.Р. Осмопротекторы: ответ растений на осмотический стресс // Физиология растений. 2000. Т. 47. № 1. С. 152-159.
2. Проница Н.Б. Экологические стрессы. М.: МСХА. 2001. 312 с.
3. Ефимова М.В., Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Малофий М.К. и др. Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению // Физиология растений. 2018. Т.65. № 3. С.196-206.
4. Большой практикум «Биохимия»: лаб. работы / М.Г. Кусакина, В.И. Суворов, Л.А. Чудинова. Пермь: Изд-во ПГНИУ. 2012. 148 с.

5. Bates L.S. Waldren R.P., Teatre I.D. Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies // *Plant and Soil*. 1973. V. 39. P. 205-207.
6. Bajji M., Lutts S., Kinet J.M. Water Deficit Effects on Solute Contribution to Osmotic Adjustment as a Function of Leaf Ageing in Three Durum Wheat (*Triticum durum* Desf.) Cultivars Performing Differently in Arid Conditions // *Plant Sci*. 2001. V. 160. P. 669-681.
7. Navarro A., Banón S., Olmos E., Sánchez-Blanco M.J. Effects of Sodium Chloride on Water Potential Components, Hydraulic Conductivity, Gas Exchange and Leaf Ultrastructure of *Arbutus unedo* Plants // *Plant Sci*. 2007. V. 17. P. 2473-2480.
8. Коломейчук Л.В., Бойко Е.В., Малофий М.К. и др. Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению // *Физиология растений*. 2018. Т.65. № 3. С. 196-206.
9. Кузнецов Вл.В., Шевякова Н.И. Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция // *Физиология растений*. 1999. Т. 46. № 2. С. 321-336.
10. Чжоу К., Юй В.Дж. Накопление неорганических и органических осмолитов и их роль в осмотической регуляции у проростков *Vetiveria zizanioides* при действии NaCl // *Физиология растений*. 2009. Т. 56. № 5. С. 751-758.

Некоторые особенности минерального состава растений на вторично засоленной аллювиальной почве

С.В. Щербёнок, О.А. Четина
ПГНИУ

Аннотация. Представлены результаты исследований по минеральному составу некоторых видов растений, произрастающих в условиях техногенного засоления в Пермском Прикамье. Выделены соленакапливающие и соленепроницаемые виды, а также отмечено избирательное накопление калия, кальция и магния.

Ключевые слова: техногенное засоление, минеральные элементы

Отходы с Верхнекамского месторождения солей складированы в шламохранилища и солеотвалы и ежегодно их площадь вырастает на 20-25 Га, что приводит к дальнейшему загрязнению окружающей

среды. Данная деятельность приводит к повышению концентрации солей в почве до уровней, которые усугубляют её качество и, соответственно, влияют на жизнедеятельность организмов [1, 2]. Избыточное накопление солей в корнеобитаемом слое почвы приводит к изменению в соотношении минеральных веществ. Это обусловливается не только концентрацией засоляющих ионов, но и биологическими особенностями самих растений [3].

Целью нашего исследования являлось изучение некоторых особенностей минерального состава растений на вторично засоленной аллювиальной почве.

В качестве объектов исследований были взяты 6 видов растений около г. Березники в долине реки Лёнвы на вторично засоленной аллювиальной почве с изреженной растительностью: марь белая (*Chenopodium album* L.), бескильница расставленная (*Puccinellia distans* (Jacq.) Parl.), очиток пурпуровый (*Sedum purpureum* (L.) Shult), торичник солончаковый (*Spergularia salina* J.), лебеда раскидистая (*Atriplex patula* L.), ситник сплюснутый (*Juncus compressus* J.). Для каждого вида пробы листьев собирали в пяти местах произрастания.

В листьях исследуемых растений было определено валовое количество Na^+ и K^+ методом пламенной фотометрии, свободный Cl^- – меркурометрическим методом, Ca^{2+} и Mg^{2+} – комплексометрическим.

В результате проведенных исследований оказалось, что количество ионов натрия в надземных частях растений варьировало от 52,03 – 2155 мг/100 г сухой массы (таблица). Максимальным содержанием отличились торичник солончаковый (2155 мг/100 г сух. массы), лебеда раскидистая (1608 мг/100 г сух. массы) и марь белая (1271 мг/100 г сух. массы). У остальных растений этот показатель не превышал 147 мг/100 г сух. массы.

Таблица

Минеральный состав растений на вторично засоленной аллювиальной почве, мг/100 г сухой массы

Исследуемые объекты	Na^+	Cl^-	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}
Марь белая	1272	7933	1001	386,8	76,8
Бескильница расставленная	147	3148	769,4	212,9	50
Очиток пурпуровый	56,4	2741	435	754,1	71,1
Торичник солончаковый	2155	8270	2210	173,2	53,7
Лебеда раскидистая	1608	6055	944,5	296,4	60
Ситник сплюснутый	52	2068	1195	47,8	42

Максимальное количество ионов Cl^- зафиксировано в листьях торичника, мари и лебеды (6055–8270 мг/100 г сух. массы). Солеустойчивые

марь, лебеда, и торичник характеризовались наибольшим количеством засоляющих ионов. Бескильница, ситник и очиток отличались пониженным содержанием Na^+ и Cl^- , проявляя, по-видимому, свойство соленепроницаемости.

Количество ионов хлора превышает количество натрия. Это связано с тем, что ионы хлора более подвижны в почвенном растворе и обладают меньшей токсичностью для растений по сравнению с Na^+ . Массовый приток Na^+ приводит к серьезному дефициту отрицательного заряда и для устранения ионного дисбаланса, возможно, накапливаются анионы хлора в органах растений [4].

Солеустойчивые марь, лебеда, и торичник характеризовались наибольшим количеством засоляющих ионов. Бескильница расставленная, ситник сплюснутый и очиток отличались пониженным содержанием Na^+ и Cl^- , проявляя, по-видимому, свойство соленепроницаемости.

Наиболее высокое содержание ионов калия в листьях характерно для торичника солончакового (2210 мг/100 г сух. массы). У остальных растений его содержание варьирует от 435 до 1195 мг/100г сух. массы. Содержание ионов K^+ превышает количество ионов Na^+ . Это связано с тем, что растения предпочитают накапливать калий из-за его меньшей токсичности, он также участвует в создании осмотического потенциала.

Роль кальция в регуляции клеточных процессов при солевом стрессе заключается, в частности, в формировании проницаемости мембран. Ионы кальция являются универсальными вторичными мессенджерами и оказывают регулирующее влияние на многие стороны метаболизма [5]. Максимальное содержание ионов кальция зафиксировано в листьях очитка пурпурового 754 мг/100 г сух. массы. У остальных растений этот показатель довольно ниже и варьирует в пределах 47,8 – 386 мг/100г.

Наибольшим содержанием магния отличились марь белая и очиток пурпуровый (76,8 и 71,1 мг/100г сух. массы соответственно). У остальных растений содержание варьирует примерно в одном диапазоне (42 – 60 мг/100г). При повышении степени обеспеченности магнием в растениях возрастает содержание органических и неорганических фосфорных соединений, играющих важную роль в энергообеспеченности клеток. Обеспеченность энергией необходима для уменьшения токсичности ионов натрия и сохранения ионного гомеостаза растений.

Таким образом, в основе высокой солеустойчивости галофитов мари, торичника и лебеды лежит их способность к избирательной аккумуляции засоляющих ионов с целью понижения водного потенциала клеток. Бескильница, ситник и очиток отличались пониженным содержанием Na^+ и Cl^- , проявляя свойство соленепроницаемости. В то же время бескильница и ситник накапливали значительные количества K^+ ,

что позволяет регулировать осмотический потенциал клеток. Повышенная аккумуляция Ca^{2+} в листьях очитка, по-видимому, связана с необходимостью стабилизации клеточных мембран при избытке токсичных ионов.

Библиографический список

1. Lemanowicz J. Activity of selected enzymes as markers of ecotoxicity in technogenic salinization soils // Environ Sci Pollut. 2019. Vol. 26. P. 13014–13024.

2. Singh A. Soil salinization management for sustainable development: A review // Journal of Environmental Management. 2021 Vol. 277. 111383 p.

3. Кусакина М. Г., Еремченко О. З., Четина О. А. Влияние разного уровня техногенного засоления на некоторые показатели обмена веществ растений // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2011. № 1. С. 73–77.

4. Сюткина Д. А., Четина О. А. Содержание кальция и магния у растений в условиях вторичного засоления почв // Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии: сборник статей региональной студенческой научной конференции с международным участием. Пермь: ПГНИУ, 2020. С. 69–73.

5. Кусакина М. Г., Филатова Л. А., Орлова Н. В. Влияние засоления на содержание кальция и магния у галофитов с различными механизмами регуляции солевого обмена // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2004. Вып. 2. С. 148–150.

СЕКЦИЯ «МИКРОБИОЛОГИЯ, БИОТЕХНОЛОГИЯ, ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ И ПРИКЛАДНАЯ МЕДИЦИНА, ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА, ИММУНОЛОГИЯ»

Влияние НПВС на жизнеспособность и агрегацию клеток *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 346

Д.С. Бадалова¹, Е.А. Тюмина^{1,2}

¹ ПГНИУ

² Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь, Россия

Аннотация. На примере кетопрофена, напроксена, диклофенака, ибупрофена и мелоксикама – нестероидных противовоспалительных средств, изучено влияние токсичных фармполлютантов на жизнеспособность и когезию клеток штамма *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 346. Методом флуоресцентной микроскопии установлено, что ответной реакцией родококков на присутствие экотоксикантов является формирование многоклеточных агрегатов, включающих белковый матрикс с вкраплениями гликопротеинов и окаймленных бета-полисахаридами.

Ключевые слова: *Rhodococcus*, НПВС, адаптационные механизмы.

На фоне прогрессивно ухудшающейся экологической обстановки перед человечеством возникла новая глобальная угроза – фармацевтическое загрязнение наземных и водных экосистем. Среди лекарственных препаратов, которые попадают в окружающую среду, одной из наиболее часто детектируемых групп являются нестероидные противовоспалительные средства (НПВС). Они оказывают губительное действие на беспозвоночных и позвоночных животных, высшие и низшие растения, а также сообщества микроорганизмов [1, 2]. В последнее время особый интерес для исследователей представляют микроорганизмы, которые участвуют в процессах самоочищения экосистем от ксенобиотиков и обладают высокой степенью стрессоустойчивости. Среди них актиномицеты рода *Rhodococcus* отличаются уникальной метаболической пластичностью, способны разлагать огромный спектр загрязняющих веществ и поэтому рассматриваются в качестве перспективных кандидатов на роль биодеструкторов фармполлютантов [4].

Родококки активно применяются в экобиотехнологии и биоремедиации, однако их адаптационные механизмы в ответ на лекарственное загрязнение практически не изучены. Исходя из этого, целью данной работы стало выявление ответных реакций родококков на воздействие НПВС.

В исследованиях использовали наиболее часто обнаруживаемые в окружающей среде НПВС: напроксен, диклофенак, ибупрофен, кетопрофен и мелоксикам [3, 5], а в качестве представителя актинобактерий – штамм *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 346 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WFCC 285, УНУ 73559, ЦКП 480868, www.iegmcoll.ru). Бактерии, предварительно выращенные в мясоептонном бульоне в течение 2-х сут и отмытые дважды фосфатным буфером (pH 7,0), вносили в минерально-солевую среду RS до оптической плотности ОП₆₀₀ 0,6 и инкубировали в присутствии 100 мг/л каждого отдельного НПВС или их смеси в течение 7 сут при температуре 28°C и интенсивности перемешивания среды 160 об. мин. Клетки родококков окрашивали флуоресцентным красителем LIVE/DEAD® BacLight™ (Molecular Probes, США), который отображает общий уровень жизнеспособности клеток. Также в ходе исследований было подобрана методика по многокомпонентному окрашиванию клеток родококков смесью красителей: FilmTracer™ SYPRO™ Ruby (Invitrogen, США), Wheat Germ Agglutinin (Invitrogen, США) и Calcofluor White Stain (Sigma-Aldrich, США). Визуализацию бактериальных клеток под воздействием НПВС осуществляли с помощью оптического микроскопа Axio Imager M2 (Carl Zeiss, Германия).

В ходе исследования жизнеспособности клеток установлено, что в биотическом контроле количество живых клеток преобладает над мертвыми на протяжении первых трех сут, и только на седьмые сут наблюдается большое количество мертвых клеток. При воздействии напроксена и диклофенака, клетки сохраняют высокий уровень жизнеспособности на протяжении всего эксперимента. В присутствии кетопрофена и ибупрофена на 7 сут эксперимента наблюдаются массивные скопления мертвых клеток. При воздействии на культуру смеси мелоксикама и всех НПВС уже на 1 сут эксперимента отмечали превалирующее количество мертвых клеток.

Методом трехкомпонентного окрашивания установлено, что в нативной культуре родококков обнаруживаются агрегаты клеток, объединенные протеиновым матриксом, с вкраплениями гликопротеинов, и окруженные бета-полисахаридами. В биотическом контроле заметна тенденция к объединению клеток в скопления среднего размера, при этом бета-полисахариды и гликоконъюгаты со временем истощаются, и

матрикс, выделяемый клетками, приобретает преимущественно белковый состав. При добавлении напроксена, диклофенака и ибупрофена клетки образуют рыхлые скопления средних и крупных размеров, матрикс имеет преимущественно белковый состав. Клетки в присутствии же кетопрофена образуют как рыхлые, так и плотные агрегации средних размеров, при этом матрикс содержит большое количество гликоконъюгатов, а пептиды выделяются наружными клетками. В присутствии смеси всех пяти НПВС на 7 сут образуется плотное скопление клеток, имеющее наибольшие размеры по сравнению с другими вариантами эксперимента.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-14-00132.

Библиографический список

1. Тюмина Е.А., Бажутин Г.А., Картагена Гомез А.д.П., Ившина И.Б. Нестероидные противовоспалительные средства как разновидность эмерджентных загрязнителей // Микробиология. 2020. Т. 89. С. 152–168.
2. aus der Beek T., Weber F.A., Bergmann A., Hickmann S., Ebert I., Küster A.H.A. Pharmaceuticals in the environment. Global occurrences and perspectives // Environmental Toxicology and Chemistry. 2016. V. 35. P. 823–835.
3. Ivshina I.B., Tyumina E.A., Vikhareva E.V. Biodegradation of emerging pollutants: focus on pharmaceuticals // Microbiology Australia. 2018. V. 39. № 3. P. 117-122.
4. Chen W., Yangwu C., Houzhen Z., Xudong L., Zhouliang T. Adaptation mechanisms of *Rhodococcus* sp. CNS16 under different temperature gradients: Physiological and transcriptome // Chemosphere. 2020. V. 238. P. 124571.
5. Wilkinson J.L. et al. Pharmaceutical pollution of the world's rivers // PNAS. 2022. V. 109. № 8. P. e2113947119.

Механизмы влияния климатических факторов на здоровье человека

А.А. Брызгалова¹, А.А. Хасанова²

¹ ПГНИУ

² ФБУН МПТ УРЗН

Научный руководитель – д.м.н, профессор *Д.В. Ланин*, ПГНИУ

Аннотация. Климатические факторы в соответствии с механизмами влияния могут оказывать прямое и косвенное действие на здоровье человека. Прямое действие оценивалось через индекс НЭЭТ, на основе которого были рассчитаны уровни риска здоровью населения, проживающего в гг. Пермь и Норильск, обусловленные болезнями органов дыхания и системы кровообращения. Косвенное действие оценивалось с помощью индекса МПА, который позволяет определить влияние климатических факторов на распространение химических веществ. В ходе исследования удалось установить, что в городе Норильск рассеивание химических соединений происходит более интенсивно. Также удалось установить, что уровни риска, обусловленные исследуемыми классами болезней в Норильске выше, чем в Перми.

Ключевые слова: климат, здоровье, распространение химических веществ.

По оценкам ВОЗ, в Европе климатические изменения ежегодно являются причиной от 1% до 10% смертей среди старших возрастных групп [1]. Климатические факторы способны оказывать прямое и косвенное влияние на здоровье [2]. Прямое влияние связано с воздействием самих климатических факторов на организм человека. Косвенное влияние действует через изменение среды обитания, например изменение концентраций загрязняющих веществ в воздухе. Основными климатическими факторами, оказывающими влияние на человека, являются температура, относительная влажность воздуха и скорость ветра.

Цель исследования – оценить прямое и косвенное влияние климатических факторов на здоровье человека с помощью индексов НЭЭТ и МПА.

Для исследования были выбраны города Пермь и Норильск, так как климатические условия в них отличаются. Для города Пермь характерен умеренно континентальный климат, для Норильска – субарктический. Индекс НЭЭТ является комплексным показателем теплоощущений человека, защищенного летней одеждой одного типа, складывается

под влиянием температуры и влажности воздуха, а также скорости ветра. Для проведения комплексной оценки с помощью индекса НЭЭТ рассматривалось только взрослое население.

Для оценки влияния климатических факторов в виде индекса НЭЭТ использовались параметры статистически значимых линейных регрессионных моделей ($p < 0,05$) [3]. Для расчета мы пользовались коэффициентом a_1 . Отрицательный знак коэффициента означает, что заболеваемость увеличивается при уменьшении эффективной температуры. Модуль значения коэффициента равен дополнительной ассоциированной заболеваемости (случаев на 10000) при уменьшении нормальной эквивалентно-эффективной температуры на 1°C в год ниже значения оптимума (17°C).

Для расчета индекса за 2020 год использовалась формула И. В. Бутевой [4]:

$$НЭЭТ = 0,8 * ЭЭТ + 7^\circ\text{C}$$

Среднегодовое значение индекса НЭЭТ для города Пермь составило 3, для города Норильск – -5,21.

Для расчета уровней риска по выделенным классам заболеваний были использованы значения тяжести данных заболеваний [5].

По результатам проведенного исследования, для города Пермь были установлены неприемлемые уровни риска здоровью, обусловленные болезнями органов дыхания и системы кровообращения ($2,34 \times 10^{-3}$ и $8,50 \times 10^{-4}$ соответственно). Для Норильска также были установлены неприемлемые уровни риска по тем же классам ($3,71 \times 10^{-3}$ и $1,35 \times 10^{-3}$). Уровень риска, обусловленный болезнями органов дыхания, для двух городов является высоким. Для города Пермь уровень риска, обусловленный болезнями системы кровообращения – настораживающий, для Норильска – высокий. Уровни риска по рассматриваемым классам болезней в Норильске выше, чем в Перми, так как значение индекса НЭЭТ в Норильске ниже.

Для оценки косвенного влияния климатических факторов использовался показатель метеорологического потенциала атмосферы (МПА). Он позволяет оценить условия для рассеивания примесей в атмосфере

Чем больше по абсолютной величине МПА, тем хуже условия для рассеивания примесей в атмосфере. Если МПА меньше 1 – создаются хорошие условия для рассеивания примесей. Если МПА больше 1 – преобладает повторяемость процессов, которые способствуют накоплению вредных примесей.

Для расчета значения МПА была использована формула:

$$МПА = (P_{сл} + P_m) / (P_o + P_{в})$$

где Р – повторяемость, %; Рсл – скоростей ветра 0-1 м/с, Рт – дней с туманом, Ро – дней с осадками более 0,5 мм, Рв – скоростей ветра ≥ 6 м/с.

Таким образом, МПА для города Пермь за 2020 год составил 0,42, для города Норильск – 0,22.

В исследуемых городах создаются благоприятные условия для рассеивания примесей в атмосфере. Однако в городе Норильск рассеивание происходит более интенсивно, чем в городе Пермь.

На основе данного исследования можно сделать вывод о том, что климатические факторы в виде индекса НЭЭТ, а именно температура и влажность воздуха, а также скорость ветра, в городе Норильск оказывают более негативное влияние на здоровье человека, нежели в городе Пермь. В Норильске создаются более благоприятные условия для рассеивания химических соединений, что положительно сказывается на здоровье населения. Также уровни риска, обусловленные рассматриваемыми классами болезней в Норильске выше, чем в Перми. Это значит, что заболеваемость, связанная с климатическими факторами, развивается более интенсивно в городе Норильск, где климатические условия суровее.

Библиографический список

1. Акимов В.Г. Биологические эффекты ультрафиолетового облучения кожи // Вестник дерматологии и венерологии. 2008. № 3. С. 81-84.
2. Гай П. Последствия изменения климата для качества воздуха // Погода, климат и воздух, которым мы дышим. 2009. Т. 58(1). С. 10-15.
3. Шур П.З., Кирьянов Д.А., Камалтдинов М.Р., Хасанова А.А. К оценке риска для здоровья населения, обусловленного влиянием климатических факторов в условиях Крайнего Севера // Анализ риска здоровью. 2022. №3. С. 53-62.
4. Бутьева И.В., Овчарова В.Ф. Роль комплекса погодообразующих факторов в медико-метеорологическом прогнозировании // Погодообразующие факторы и их роль в биоклиматологии. Сб. ст.–М.: Изд. Моск. фил. геогр. общ-ва, 1980, с.73 – 83.
5. Онищенко Г.Г., Зайцева Н.В., Май И.В., и др. Анализ риска здоровью в стратегии государственного социально-экономического развития: монография. Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2014. 738 с.

Протеомный профиль плазмы крови у детей в условиях внешнесредового аэрогенного воздействия никеля

О.И. Бурдина
ПГНИУ

Научный руководитель – д.м.н., профессор *М.А. Землянова*, ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»

Аннотация. Выявлены омик-маркеры негативных эффектов реальной аэрогенной экспозиции никеля: SLC9A2 обменник/водорода 2, MTM1 миотубулярин, UNK RING пальцевый протеин неопрытный гомолог, TGM3 протеин-глутамин-гамма-глутамилтрансфераза E. Установленные омик-маркеры позволяют прогнозировать на основе изменений на молекулярном уровне развитие негативных эффектов со стороны органов дыхания, пищеварения и органов кровообращения, а также со стороны нервной системы.

Ключевые слова: никель в крови, протеомный профиль плазмы крови, омик-маркеры.

Загрязнение воздуха становится актуальной проблемой в результате увеличения потребления энергии, увеличения численности населения и промышленных предприятий, что приводит к образованию опасных загрязняющих веществ [1]. В условиях особого высокого уровня загрязнения атмосферного воздуха химическими веществами, к числу которых относятся высокотоксичные соединения никеля, существует риск развития негативных эффектов со стороны органов дыхания, пищеварения, кровообращения, нервной системы. Проблема аэрогенного воздействия соединений никеля оказывает негативное влияние на здоровье детей, что может в дальнейшем привести к формированию различных заболеваний со стороны дыхательной, нервной, сердечно-сосудистой и пищеварительной системы [4]. Обозначенная проблема обуславливает актуальность исследований, направленных на идентификацию молекулярных омик-маркеров. Цель исследования – выявление омик-маркеров для прогнозирования развития негативных эффектов у детей с повышенным содержанием никеля в крови.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись образцы плазмы крови 25 детей в возрасте 4-6 лет, имеющих повышенное содержание никеля в крови относительно референтных значений (группа

наблюдения) и 20 детей этого же возраста с содержанием в крови никеля на уровне референтных значений (группа контроля). Исследования протеомного профиля плазмы крови детей группы наблюдения и контроля выполнено по технологии двухмерного электрофореза в полиакриламидном геле [8]. Полученные электрофореграммы плазмы крови визуализировали методом окраски серебром и документировали с помощью системы для гель-документирования (BioRad, США). Анализ полученных протеомных карт проводили с помощью программы PDQuest (BioRad, США). В полученной протеомной карте выделяли значимые белковые пятна по их интенсивности и проводили анализ методом жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрическим анализом (на хроматографе UltiMate 3000 (Германия) и на тандемном масс-спектрометре ABSciex 4000 QTRAP с источником ионизации Nanospray 3 (Канада)). Полученные данные обрабатывали программой ProteinPilot, версия 4,5 (AB SCIEX), с идентификацией по базе данных UniProt с выборкой по таксону Homo Sapiens. Установление гена, которому соответствует идентифицированный белок, выполнено с помощью базы данных HGNC database of human gene name. Результаты исследования согласовали с результатами научных исследований по генно-химическим взаимодействиям, приведенных в Comparative Toxicogenomics Database и DisGeNET.

Результаты. Полученные некоторые зависимости изменения интенсивности белковых пятен (изменение экспрессии соответствующего гена) при повышенном содержании никеля в крови в настоящем исследовании согласуются с результатами научных исследований по генно-химическим взаимодействиям, приведенных в Comparative Toxicogenomics Database и DisGeNET. Так, при повышенном содержании никеля в крови установлено понижение экспрессии гена SLC9A2 обменник/водорода 2, MTM1 миотубулярин, UNK RING пальцевый протеин неопрятный гомолог [2, 3, 5-7, 9]. При повышенном содержании никеля в крови установлено повышение экспрессии гена TGM3 протеин-глутамин-гамма-глутамилтрансфераза E [6]. Таким образом, доказана роль повышенного содержания никеля в крови в трансформации протеомного профиля плазмы крови у детей, проживающих в условиях аэрогенной экспозиции никеля. Установленные омик-маркеры SLC9A2 обменник/водорода 2, MTM1 миотубулярин, UNK RING пальцевый протеин неопрятный гомолог, TGM3 протеин-глутамин-гамма-глутамилтрансфераза E целесообразно использовать для прогнозирования изменений на молекулярном уровне развитие негативных эффектов со

стороны органов дыхания и пищеварения, органов кровообращения, а также со стороны нервной системы.

Библиографический список

1. Bai. L., Wang, J., Ma. X. Air Pollution Forecasts: An Overview // International Journal of Environmental Research and Public Health. 2018. Vol. 15, № 4. P. 642–648.

2. Cho W.S., Duffin R., Thielbeer F., Bradley M. Zeta potential and solubility to toxic ions as mechanisms of lung inflammation caused by metal/metal oxide nanoparticles // Toxicol Sci. 2012. Vol. 126, № 2, P. 469–77.

3. Chang X., Zhu A., Liu F., Zhou L. Role of NF- κ B activation and Th1/Th2 imbalance in pulmonary toxicity induced by nano NiO // Toxicology. 2017. Vol. 32, № 4. P. 1354–1362.

4. Jacob S.E., Goldenberg A., Pelletier J.L., Fonacier L.S., Usatine R., Silverberg N. Nickel Allergy and Our Children's Health: A Review of Indexed Cases and a View of Future Prevention // Pediatric Dermatology. 2015. Vol. 32, № 6. P. 779–785.

5. Liu S.H., Wang R.H., Chen CY, Lee H. Nickel may contribute to EGFR mutation and synergistically promotes tumor invasion in EGFR-mutated lung cancer via nickel-induced microRNA-21 expression // Molecular Toxicology. 2015. Vol 19, № 1. P. 46–54.

6. Pari L., Prasath A. Efficacy of caffeic acid in preventing nickel induced oxidative damage in liver of rats // Chem Biol Interact. 2008. Vol. 28, № 2. P. 77–83.

7. Qiao S., Sun Y., Jiang Y., Chen X. Melatonin ameliorates nickel induced autophagy in mouse brain: Diminution of oxidative stress // Citation Toxicology. 2022. Vol 15, № 3. P. 473–478.

8. Simula M.P., Notarpietro A., Toffoli G., De Re V. 2-D Gel Electrophoresis: Constructing 2D-Gel Proteome Reference Maps // Functional Genomics. 2011. Vol. 8, № 2. P. 163–173.

9. Xu H., Xu Q., Chen B., Kan H. Fine particulate matter constituents and cardiopulmonary mortality in a heavily polluted Chinese city // Environ Health Perspect. 2012. Vol. 120, № 3. P. 373–380.

Влияние герпетической инфекции на функциональное состояние дыхательной системы у детей

Е.В. Ветчанинова

ПГНИУ

Научный руководитель – доцент *О.А. Маклакова*, ФБУН Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения

Аннотация. В статье рассмотрены результаты исследования влияния герпетической инфекции на функциональное состояние дыхательной системы у детей. У 80,6% детей с герпетической инфекцией выявлены структурные изменения в небных миндалинах, в 60,1% случаев обструктивные нарушения проходимости верхних дыхательных путей.

Ключевые слова: герпетическая инфекция, дыхательная система, дети.

Заболевания, вызываемые герпес вирусами, занимают одно из ведущих мест в патологии человека [2]. Это объясняется широким распространением вирусов среди населения, а также способностью возбудителей длительно персистировать в организме, давать рецидивы при нарушении иммунного профиля [1,4]. Одновременная реактивация нескольких вирусов герпеса способствует более выраженной иммуносупрессии местного иммунитета дыхательной системы и сопровождает процессы изменения клеток, что способствуют развитию рецидивирующих респираторных заболеваний органов дыхания [3,5].

Целью работы было изучение влияния герпетической инфекции на состояние дыхательной системы у детей.

Оценка состояния дыхательной системы проводилась у детей в возрасте 5-14 лет, проживающих на двух территориях Пермского края. Дети были разделены на две группы: группу наблюдения составили 93 ребенка с герпесвирусной инфекцией (ГВИ), группу сравнения – 85 детей без ГВИ. Группы были сопоставимы по

половозрастному составу ($p=0,234-0,943$). Функциональное состояние дыхательной системы оценивали с помощью передней активной риноманометрии, спирографии, импульсной осцилометрии, ультразвукового исследования небных миндалин.

По результатам передней риноманометрии не выявлено различий между исследуемыми группами по показателям средней суммарной общей скорости потока носового дыхания и суммарного сопротивления в точке фиксированного давления 150 Паскаль.

Однако, нарушения носового дыхания регистрировалось в 1,2 раза чаще в группе наблюдения ($p=0,315$) (рис. 1). Умеренная носовая обструкция встречалась у 18,8% детей группы наблюдения, что было в 1,9 раза чаще группы сравнения (10%, $p=0,142$).

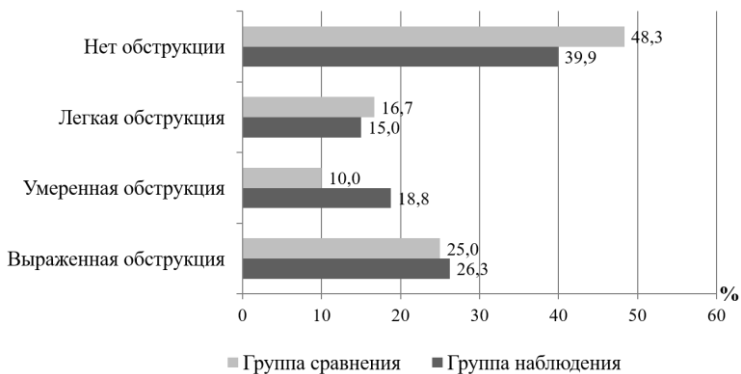


Рис. 1. Нарушение дыхательной функции носа у обследованных детей, %

Исследование функции внешнего дыхания показало, что среднегрупповые показатели легочных объемов соответствовали нормативным значениям. При этом индекс Тиффно и индекс Генслера были ниже в группе наблюдения (83,5% и 86,07% против 89,1% и 89,8% в группе сравнения соответственно, $p=0,009-0,064$), что может свидетельствовать о тенденции к развитию бронхиальной обструкции.

Выявлено, что обструктивные нарушения проходимости дыхательных путей встречались у 9,9-11,1% обследованных детей ($p=0,029$). Признаки легочной рестрикции зарегистрированы в единичных случаях ($p=0,413$).

По результатам импульсной осциллометрии не было выявлено детей с признаками периферической обструкции, однако показатель относительной частотной зависимости (R5-R20) был в 2 раза выше в группе наблюдения (45,31% против 22,81% в группе сравнения соответственно, $p=0,25$).

Сравнительный анализ данных ультразвукового исследования небных миндалин показал, что 80,6% группы наблюдения имели структурные изменения лимфоидной ткани, что было в 1,3 раза чаще группы сравнения (61,5%, $p=0,830$). При этом детрит небных миндалин обнаруживался у 32,3% детей группы наблюдения, что было в 2,1 раза чаще сравниваемой группы (15,4%, $p=0,095$) (рис. 2). Признаки хронического тонзиллита регистрировались практически у каждого 2 обследованного ребенка.

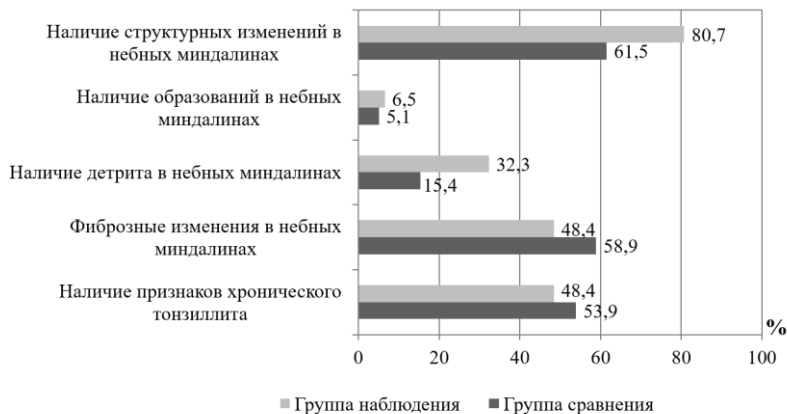


Рис. 2. Результаты ультразвукового сканирования небных миндалин

Размер небных миндалин был больше у детей группы наблюдения ($p=0,238-0,446$).

Таким образом, у 45,1% детей с персистирующей герпетической инфекцией отмечались умеренная и выраженная носовая обструкция, obstructивные нарушения проходимости дыхательных путей в 9,9%, а в 80,6% случаев выявлены структурные изменения в небных миндалинах.

Библиографический список

1. Боковой А.Г. Герпесвирусные инфекции у детей – актуальная проблема современной клинической практики // *Детские инфекции*. 2016. № 2. С. 3–7.
2. Егорова Н. Ю. и др. Значение маркеров герпетических вирусов для оценки состояния здоровья детей // *Детские инфекции*. 2008. №2. С. 16–20.

3. Ключников С.О. и др. Острые респираторные заболевания у детей // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2008. №3. Приложение

4. Краснова Е.И. и др. Герпетические инфекции у детей. Под ред. проф. Сабитова А.У; Урал. Гос. мед. ун-т Екатеринбург. 2014. С. 114.

5. Османов И.М. и др. Герпесвирусные инфекции у детей, часто болеющих острыми респираторными заболеваниями: возможности улучшения диагностики и терапии // Практика педиатра. 2022. № 3.

Изучение биотехнологических свойств потенциальных пробиотических штаммов *E. coli* ЛЭГМ-18 и ZP

С.А. Вожакова¹, Л.Ю. Нестерова^{1,2}, М.В. Кузнецова^{2,3},
А.А. Елькин^{1,2}

¹ПГНИУ

²ИЭГМ УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН

³ПГМУ

Аннотация. В настоящее время широкое применение как в медицине, так и в ветеринарии имеют препараты бактериального происхождения. Особенно актуальным применение пробиотических препаратов является в связи с ограничениями использования антибиотиков, которое вызвано, в первую очередь, распространением антибиотикорезистентности бактерий. Основой для разработки новых пробиотических препаратов являются представители естественной желудочно-кишечной микробиоты, такие как молочнокислые бактерии (*Lactobacillus* и *Bifidobacterium*) и кишечная палочка, например *E. coli* Nissle 1917 (Sonnenborn, 2016). Основным этапом в производстве пробиотических препаратов является культивирование микроорганизмов. Решающими факторами в этом процессе являются состав среды и условия культивирования, которые обеспечивают быстрый рост биомассы и сохранение основных свойств пробиотических микроорганизмов и их жизнеспособности.

Ключевые слова: Пробиотические препараты, *E. coli* ZP, *E. coli* ЛЭГМ-18, антагонистическая активность.

Цель работы – выявление оптимальных условий культивирования потенциальных пробиотических штаммов *E. coli* ЛЭГМ-18 и ZP и изучение их антагонистической активности при выращивании в лабораторном биореакторе.

Материалы и методы

Все используемые штаммы получены, хранятся и поддерживаются в лаборатории молекулярной микробиологии Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН. Штамм *E. coli* ЛЭГМ-18, выделен от здорового пациента при плановом осмотре в 1993 г. на базе ИЭГМ УрО РАН профессором Пшеничным Р.А., первично охарактеризованный им и депонированный во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов был рекомендован ранее для получения колибактерина, однако до сих пор не использовался в качестве пробиотической культуры. Штамм *E. coli* ZP, искусственно созданный Starčič Erjavec M. путем введения в клетки известного пробиотического штамма *E. coli* Nissle 1917 конъюгативной плазмиды рOX38a. В исследованиях антагонистической активности так же использовались штаммы-мишени: *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* K33, *E. coli* цип1, *E. coli* K40, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC (MRSA) 43300, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. epidermidis* природный изолят, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *K. pneumoniae* природный изолят.

Культивирование потенциальных пробиотических штаммов осуществляли в ферментере Labfors 4 (INFORS HT, Швейцария) непрерывно в течении 6 – 9 часов до достижения стационарной фазы роста бактерий. На 1,5 л среды добавляли 150 мл инокулята при температуре 37 градусов на 800-1200 об. мин. и аэрации 10 л.мин В процессе культивирования отбирали пробы для измерения оптической плотности.

Исследование антагонистической активности исследуемых потенциальных пробиотических штаммов проводили методом отсроченного антагонизма на жидкой среде с использованием Мультимодального планшетного ридера, в котором и проводили культивирование с регулярным измерением оптической плотности. Определение количества КОЕ методом высева на твердую питательную среду (Ившина и др., 2022).

Инокулят получали путем посева на пробирку в жидкую среду с выдерживанием в термостате в течение 12 часов и добавлением этой суспензии в колбу со 150 мл средой еще на сутки. первые опыты, где мы определяли оптимальные условия культивирования были поставлены на среде МПБ. На 1,5 л среды добавляли 150 мл инокулята при температуре 37 градусов на 800 об/мин и аэрации 10-20 л/мин В процессе

культивирования отбирали пробы для измерения оптической плотности.

Изучение антагонистической активности исследуемых потенциальных пробиотических штаммов проводили методом отсроченного антагонизма на жидкой среде с использованием мультимодального планшетного ридера Tecan Infiniti 200 PRO (Tecan Austria GmbH, Австрия). Культивирование штаммов-мишеней осуществляли непосредственно в планшетном ридере на 96-луночных, плоскодонных, стерильных иммунологических планшетах в трехкратной повторности при 37 °С с интервалом измерения OD₆₀₀ 60 мин. Рассчитывали процент угнетения роста тестовых культур, принимая за 100% показатель оптической плотности культуры, выросшей в контрольных лунках без добавления культуральной жидкости

Результаты и обсуждения

Первоначальные эксперименты были направлены на выявление оптимальных условий культивирования и в качестве среды использовали богатую питательную среду ГРМ-бульон. Культивирование осуществляли при температуре 37 °С, аэрации 10 л/мин и скорости перемешивания 800 об/мин. В ходе эксперимента было показано, что скорость перемешивания необходимо увеличить до 1200 об/мин поскольку культивирование кишечной палочки при 800 об/мин приводит к достижению стационарной фазы роста бактериями уже через 6 ч. Увеличение скорости перемешивания, приводит к значительной интенсификации массопереноса в культуре, что благоприятно с точки зрения увеличения биомассы бактериальной культуры. Так же были протестированы разные режимы аэрации, поскольку недостаточный уровень кислорода может отразиться на конечной биомассе бактерий. Оптимальный результат был достигнут при уровне аэрации 20 л/мин.

Культуральную жидкость для определения антагонистической активности отбирали при ОП₆₀₀ культуры 2,5 и 3,5. О наличии /отсутствии антагонистической активности судили по подавлению роста биомассы тест – культур в присутствии супернатантов исследуемых штаммов. Супернатанты и их смеси, полученные из культур при оптической плотности 3,5 были более активны в отношении всех тест культур.

Супернатанты полученные из культур потенциальных пробиотических штаммов показывают высокий уровень антагонистической активности: наиболее активен в отношении всех тест-культур супернатант *E. coli* ЛЭГМ-18 использование которого приводит к подавлению роста штаммов-мишени до 45%. Штамм *E. coli* ZP показывает высокую ан-

тагонистическую активность в отношении культур *S. epidermidis* природный изолят, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* с показателем антагонистической активности до 31,7%.

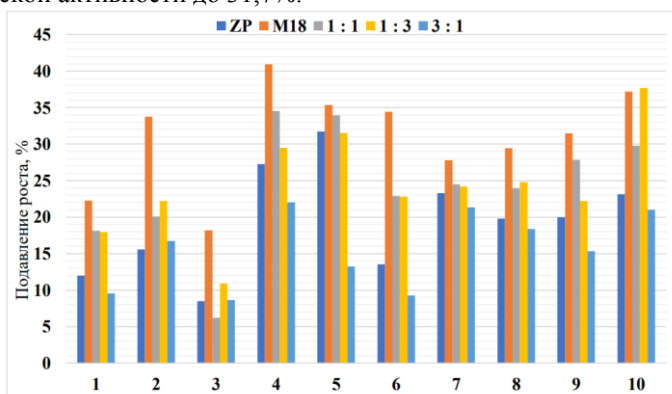


Рисунок. Антагонистическая активность супернатантов культур (OD600 3,2) потенциальных пробиотических штаммов (типичный эксперимент из серии). 1 – *K. pneumoniae* ATCC 700603, 2 – *K. pneumoniae* природный изолят, 3 – *S. epidermidis* ATCC 12228, 4 – *S. epidermidis* природный изолят, 5 – *S. aureus* ATCC 25923, 6 – *S. aureus* ATCC (MRSA) 43300, 7 – *E. coli* ATCC 25922, 8 – *E. coli* K33, 9 – *E. coli* K40, 10 – *E. coli* цип1

Наибольшим антагонистическим эффектом различных сочетаний супернатантов штаммов *E. coli* ZP и ЛЭГМ18 обладает смесь в соотношении 1:1 при использовании которой антагонистическая активность регистрируется на уровне до 34,5%.

Библиографический список

1. Sudhanshu S. Behera, Ramesh C. Ray, Urmimala Das, Sandeep K. Panda, and P. Saranraj., *Microorganisms in Fermentation*. Springer Nature Switzerland AG 2019. A. Berenjian (ed.), *Essentials in Fermentation Technology, Learning Materials in Biosciences*, https://doi.org/10.1007/978-3-030-16230-6_1

2. Ившина И.Б., Каменских Т.Н., Тюмина Е.А., Елькин А.А. «Микробиология. Рабочая тетрадь для лабораторно-практических занятий»: практикум/; Пермский государственный национальный исследовательский университет. – Пермь, 2022. – 100 с. ISBN 978-5-7944-3859-8

Характеристика бактерий – продуцентов гидролитических ферментов, перспективных в качестве стимуляторов роста растений

О.А. Громова¹, А.Ю. Максимов^{1,2}

¹Пермский государственный национальный исследовательский университет

²Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН

Аннотация.

Исследованы бактерии *Pseudomonas peli* – продуценты внеклеточной и ассоциированной с клетками липазы. Определены морфологические и физиолого-биохимические особенности выделенных штаммов. Определена температурная и pH-зависимость активности липазы. Установлено, что выделенные бактерии при внесении в почву способны стимулировать рост модельных растений.

Ключевые слова: гидролитические ферменты, липаза, нитрилаза, *Pseudomonas*

В разнообразии почвенной микробиоты некоторые бактерии, обладающие высокой активностью ряда гидролитических ферментов, являются ключевыми в процессах гумификации органических веществ, почвообразования, питания растений и нормального функционирования их корневой системы.

Основная направленность применения микроорганизмов в растениеводстве – это повышение урожайности за счет стимулирования роста и реализации биологического потенциала растений. Разложение оставляемых на полях пожнивных остатков служит источником углерода и биогенных элементов для растений, а также способствует образованию гумуса [1]. При гидролизе гумусовых веществ микроорганизмами высвобождаются доступные для растений компоненты органического и минерального питания [2].

Гидролитические ферменты, устойчивые к экстремальным условиям, представляют также большой интерес для промышленности [3]. Одним из наиболее привлекательных ферментов для широкой практической реализации процессов в органическом синтезе является липаза [4].

Наиболее перспективными представляются продуценты новых гидролитических ферментов, выделенные из защелоченных сред природ-

ного или техногенного происхождения. Биомасса бактерий – продуцентов нитрилиз, липаз, амилаз, амидаз, протеаз может быть использована в качестве ростостимулирующих препаратов для растениеводства [5].

Цель работы: Выделение и характеристика почвенных бактерий – продуцентов гидролитических ферментов, перспективных в качестве стимуляторов роста растений.

Бактерии – продуценты нитриказы выделяли из природной дерново-луговой почвы, отобранной в Нытвенском р-не Пермского края, в пойменной зоне р. Сюзьва. Культуры, способные трансформировать нитрилы, выделяли методом накопительной культуры на среде N с ацетонитрилом в качестве единственного источника углерода и азота. В результате проведенной селекционной работы выделен и идентифицирован штамм *Pseudomonas fluorescens* N59 (класс *Gammaproteobacteria*), проявляющий высокую нитриказную активность, до 9 мкмоль/мг/мин.

В работе также были использованы изоляты алкалотолерантных бактерий, выделенные ранее на территории содового шламохранилища АО «Березниковский содовый завод».

Изучены морфологические и физиолого-биохимические особенности выделенных штаммов протеобактерий, температурная и рН-зависимость липазной и нитрилоказной активности алкалофильных бактерий. Селекционированы и идентифицированы бактерии рода *Pseudomonas*, обладающие активностями липазы и нитриказы

Для идентификации бактерий исследовали культурально-морфологические и биохимические свойства бактерий в соответствии с определителем бактерий Берджи. Была проведена идентификация двух изолятов бактерий: 3Т БЕЖ и 3Т Б2 методом ПЦР и последующего секвенирования гена 16S рРНК. Установлено, что эти штаммы являются представителями вида *Pseudomonas peli* (класс *Gammaproteobacteria*).

Для энзимологических исследований культуры выращивали в конических колбах в 100 мл среды LB на термошейкере при 30°C. Ферментный препарат получали путем ультразвукового диспергирования 4×10 мин и последующего фракционирования сульфатом аммония при 60% насыщения.

Для определения липолитической активности изолятов, проводили биохимическую реакцию с р-нитрофениллауратом, который под действием липазы расщеплялся с образованием окрашенного продукта р-нитрофенола. Определение активности липазы осуществляли по приросту оптической плотности среды при $\lambda=405$ нм, измеренной на спектрофотометре. Исследована зависимость активности гидролитических ферментов полученных продуцентов от температуры и рН среды, а

также их термостабильность. Показано, что данные ферменты обладают активностью в широком диапазоне pH, высокой термостабильностью и выдерживают прогрев до 90°C в течение часа без значительной потери активности.

Проведены исследования температурной и pH-зависимости активности нитрилазы *P. fluorescens* N59. Установлено, что данный фермент обладает максимумом активности при слабощелочных значениях pH и выдерживает нагрев до 60°C.

Исследована ростостимулирующая активность препаратов *P. fluorescens* N59 и *P. peli* ЗТ БЕЖ и ЗТ Б2

Установлена способность выделенных бактерий стимулировать рост модельных растений и прирост вегетативной массы на 8-15%.

Библиографический список

1. Четверикова Д.В., Бакаева М.Д., Логинов О.Н. Новые ассоциации целлюлозолитических микроорганизмов для разложения пожнивных остатков // Известия уфимского научного центра РАН. 2019. № 2. С. 73–79.

2. Пищик В. Н., Бойцова Л. В., Воробьев Н. И. Влияние гуминовых веществ на растения и ризосферные микроорганизмы в растительно-микробных системах // Агрехимия. 2019. № 3. С. 85–95.

3. Шилова А.В., Максимов А.Ю., Максимова Ю.Г. Выделение и идентификация алкалолотерантных бактерий с гидролитической активностью из содового шламохранилища // Микробиология, 2021, том 90, № 2, с. 155–165

4. Безбородов А.М., Загустина Н.А. Липазы в реакциях катализа в органическом синтезе (обзор) // Прикл. биохимия и микробиология. 2014. Т. 50. С. 347–373.

5. Демаков В.А., Максимов А.Ю., Кузнецова М.В., Овечкина Г.В., Ремезовская Н.Б., Максимова Ю.Г. Биологическое разнообразие нитрилметаболизирующих бактерий антропогенно-измененных почв Пермского края // Экология. 2007. № 3. С. 185-190.

Оценка питания у современных школьников

М.Д. Гудошникова

ПГНИУ

Научный руководитель – д.м.н., О.А. Маклакова, ПГНИУ

Аннотация. В статье представлены результаты изучения среднесуточного набора продуктов питания детей, обучающихся в школе с углубленным изучением предметов (группа А) и в общеобразовательной школе (группа Б). Выявлено, что учащиеся группы А до 2,5 раза чаще потребляли творог, блюда из птицы и рыбы. Младшие школьники группы Б редко потребляли растительную пищу, молочные и мясные продукты, рыбу, а все дети группы Б предпочтения отдавали кондитерским и колбасным изделиям.

У детей 7-11 лет в группе Б отмечался избыток потребления жиров, дефицит белка, магния и фосфора, в группе А – избыток железа. У старших школьников группы Б прослеживался избыток потребления жиров, дефицит фосфора.

Ключевые слова: питание, школьники, пищевая ценность.

Охрана здоровья школьников является одним из приоритетных направлений развития системы образования [1,2]. Период школьного образования связан с риском нарушения здоровья, а питание – важнейший и управляемый фактор здоровья, имеющий существенное значение в формировании и развитии патологических состояний у ребёнка [3,4,5]. Таким образом, проблема правильного питания детей является одной из актуальных задач, стоящих перед современной школой

Объект исследования: 142 школьника (57,6 % мальчиков и 42,4% девочек; средний возраст $9,68 \pm 0,58$ лет), обучающихся в Муниципальном бюджетном общеобразовательном учреждении «Средняя общеобразовательная школа №2 с углубленным изучением отдельных предметов» в г. Лысьва (группа А); и 140 учеников (57,6 % мальчиков и 42,4% девочек; средний возраст $9,68 \pm 0,58$ лет) Муниципального бюджетного общеобразовательного учреждения «Добрянская средняя общеобразовательная школа №2» (группа Б). Группы были сопоставимы по возрасту и полу ($p=0,873$). Питание школьников оценивалось по индивидуальному суточному набору учеников с расчётом пищевой ценности. Обработка полученных результатов проводилась методами описательной статистики.

Оценка среднесуточного набора продуктов питания показала, что потребление круп, макаронных изделий, мяса птицы, кисломолочных продуктов (сыра и сметаны) учащимися обеих групп соответствовало нормативным уровням. У младших школьников выявлен дефицит потребления пшеничного хлеба, яиц, молока до 5 раз по сравнению с нормой ($p=0,69-0,21$). Отмечено что, дети младших классов группы А включали в дневной рацион хлеб в 1,6 раза, творога в 0,7 раза, блюда из рыбы – в 2,5 раза, блюда из птицы – в 1,7 раз чаще по сравнению с учениками группы Б ($p=0,91-0,14$). Установлено, что потребление кондитерских изделий младшими школьниками превышало установленную норму более чем в 10 раз ($p=0,0001$).

Учащиеся старшей школы группы Б имели дефицит в потреблении овощей и фруктов в 2 раза в сравнении с группой А, при этом показатель нормативного потребления овощей у них был ниже нормы в 7,7 раз, показатель фруктов – в 2,5 раза ($p=0,0001$). Старшие школьники группы А в 2 раза чаще употребляли творог в сравнении с показателями в группе Б ($p=0,133$), что составляло 50% от нормы. Потребление рыбы в группе Б ниже нормы на 92,2%, ниже группы сравнения на 45,5% ($p=0,309$). Показатель потребления в группе Б колбасных изделий превышал установленный уровень на 23,8% ($p=0,527$). Кондитерские изделия школьники старшей возрастной категории обеих групп употребляли в 10-15 раз больше нормы.

Оценка потребления пищевых веществ выявила у обучающихся в возрасте 7-11 лет группы Б снижение на 25% поступления белка, что было на 18% ниже показателя группы А ($p=0,057$). Отмечено, что в группе Б потребление жиров было на 40% выше установленной нормы ($p=0,0001$). Показатели энергетической ценности находились в дефиците до 36,5% калорий ($p=0,0001$). Дети обеих групп испытывали нехватку кальция на 34% ($p=0,0001$), а в группе Б было снижено потребление магния и фосфора на 12% относительно нормативного уровня ($p=0,001$). В группе А уровень потребления железа был на 16% выше нормы ($p=0,001$). В старшей возрастной категории дети группы Б получали больше жиров на 35,5% относительно нормы ($p=0,001$) и на 14,2% относительно показателей группы А ($p=0,0001$). Обучающиеся обеих групп имели дефицит в энергии до 45% калорий ($p=0,001$). Выявлено, что с питанием старшеклассники обеих групп недополучали до 40% кальция ($p=0,001$), а в группе Б на 20% – фосфор ($p=0,165$).

Таким образом, согласно среднесуточному набору продуктов питания учащиеся младшей школы группы А до 2,5 раза чаще включали в рацион творог, блюда из птицы и рыбы. В рационе учащихся группы Б

реже встречались блюда из рыбы, птицы и хлеб, преимущество отдавалось кондитерским и колбасным изделиям. В рационе детей старшего возраста группы Б преобладали колбасные и кондитерские изделия. Школьники старше 12 лет группы А чаще включали в рацион творог, рыбу, овощи и фрукты. В целом, у обследованных детей выявлен дефицит белка, углеводов и калорий, кальция. У младших школьников группы Б на фоне повышенного поступления жиров в 75% случаев имелся дефицит магния и фосфора. Старшие школьники обеих групп испытывали дефицит белков, углеводов и калорий. Дети группы Б имели избыток жиров на 35,5%, а в группе А – железа до 16%.

Библиографический список

1. Баранов А.А., Кучма В.Р., Сухарева Л.М. Состояние здоровья современных детей и подростков и роль медико-социальных факторов в его формировании // Вестник российской академии медицинских наук. 2009. С. 6-11.
2. Баранов А.А., Кучма В.Р., Тутельян В.А. Новые возможности профилактической медицины в решении проблем здоровья детей и подростков России. – 2-е изд., испр. и доп. М.: Изд-во: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 118 с.
3. Кучма В.Р. Оценка риска влияния факторов окружающей среды на здоровье детей и подростков // НИИ гигиены и охраны здоровья детей и подростков ГУ НЦЗД РАМН. 2002. С. 51 – 53.
4. Тутельян В.А. Микронутриенты в питании здорового и больного человека // Справочное руководство по витаминам и минеральным веществам. – М.: Колос, 2002. 424 с.
5. Спиричев В.Б. Обогащение пищевых продуктов витаминами и минеральными веществами // Наука и технология. – Новосибирск: Изд-во: Сиб. Унив., 2004. 548 с.

Исследование состояния здоровья населения, проживающего вблизи объекта накопленного вреда (на примере г. Усолье-Сибирское)

В.А. Дворникова

ПГНИУ

Научный руководитель – к. т. н., доц., *Д.А. Кирьянов*, ФБУН Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения

Аннотация. В данной статье рассмотрено влияние химического предприятия на состояние здоровья населения г. Усолье-Сибирское. Были определены ксенобиотики, содержание которых превышает фоновый уровень.

Ключевые слова: здоровье, химическое предприятие, г. Усолье-Сибирское

Состояние здоровья человека всегда в приоритете, поэтому важно понимать, какое негативное влияние на него оказывается антропогенными факторами. В 2020 году территория муниципального образования Усолье-Сибирское была признана зоной экологического бедствия, на которой были сосредоточены усилия по ликвидации объекта накопленного вреда. Данная ситуация характерна не только для Усолья-Сибирского, но и в целом для промышленно развитых территорий, к которым относится и Иркутская область. Основными источниками загрязнения на изучаемой территории являются предприятия теплоэнергетики, угольной, нефтехимической, деревообрабатывающей промышленности [1]. Одно из подобных производств расположено в г. Усолье-Сибирское. «Усольехимпром» является причиной отнесения города к зоне экологического бедствия. [2].

В 2020 году специалистами «Федерального научного центра медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» был организован выезд на территорию муниципального образования г. Усолье-Сибирское, и были проведены выборочные углубленные исследования, которые заключались в измерении качества объектов среды обитания и состояния индивидуального здоровья жителей. В рамках выездного мероприятия проводился отбор биологических сред жителей города. Пробы изучались с целью определения наличия чужеродных химических веществ с помощью различных методов разделения и

анализа сложных смесей веществ, таких как, высокоэффективная жидкостная хроматография (уровень содержания бенз(а)пирена)[3], газовая хроматография (содержание фенола)[4], масс-спектрометрии (определение концентраций мышьяка, меди, цинка, марганца, свинца, никеля, хрома в крови; ртути, кадмия, мышьяка в моче)[5].

По результатам исследования содержания химических веществ в организме населения было определено, что в концентрации кадмия, цинка и свинца отклонений нет; содержание ртути и бенз(а)пирена превышает фоновые значения и у детей, и у взрослых; мышьяка – только у взрослых. Концентрация ртути в 6 раз выше фонового значения, бенз(а)пирена – в 9 раз, мышьяка – в 3 раза. Содержание меди выше в 1,2 раза, никеля и хрома – в 3,5 и 2,5 раза соответственно. Фенол превышает фоновый уровень в 3 раза, марганец – в 1,2 раза, мышьяк – в 1,5 раза, причем только у взрослых. Анализ биологических сред жителей города подтверждают гипотезу о том, что с течением времени, идет постепенное накопление химических веществ в организме человека. Проведенные среднегрупповые сравнения сопоставлялись с региональным фоновым уровнем, который был определен в ходе специального исследования здоровья людей, проживающих в экологически благоприятных районах, с минимальным антропогенным влиянием на окружающую среду.

Таким образом углубленные исследования накопленных химических веществ в организме позволило установить, что население города подвергается воздействию таких элементов, как медь, мышьяк, ртуть, фенол, марганец, никель, хром, бенз(а)пирен, содержание которых выше региональных фоновых значений.

Библиографический список

1. Тараканов М. А. Развитие химического комплекса Иркутской области и его экологические проблемы // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Науки о Земле. 2020. Т. 31. С. 68-84 (обращение 06.04.2023)

2. Алыкова О. И., Чуйкова Л. Ю., Чуйков Ю. С /Накопленный экологический вред: проблемы и последствия. Сообщение 2. Анализ ситуации // Астраханский вестник экологического образования. – 2021. – № 2(62). – С. 114-137

3. МУК 4.1.3040-12 Измерение массовой концентрации бенз(а)пирена в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. — 183 с

4. МУК 4.1.2108—06 Определение массовой концентрации фенола в биосредах газохроматографическим методом. -М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008.— 183 с

5. Патент № 2585369 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/84. Способ определения содержания кадмия, свинца, мышьяка, хрома, никеля, меди, цинка, марганца, ванадия, стронция, селена, таллия в крови методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой : № 2015123991/15 : заявл. 19.06.2015 : опубл. 27.05.2016 / Н. В. Зайцева, Т. С. Уланова, Г. А. Вейхман [и др.] ; заявитель Федеральное бюджетное учреждение науки "Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения" (ФБУН "ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения")

Антагонистическая активность алкалофила «*Bacillus aequororis* 5-ДБ» по отношению к условно-патогенным микроорганизмам

А.Д. Елисеева

ПГНИУ

Научный руководитель – д-р биол. наук **Ю.Г. Максимова**, ПГНИУ

Аннотация. Исследовано ингибирующее действие *Bacillus aequororis* 5-ДБ на рост условно-патогенных микроорганизмов. По результатам эксперимента установлено, что значительного изменения роста индикаторных штаммов в присутствии метаболитов *B. aequororis* 5-ДБ не происходило. Антагонистическая активность бесклеточного супернатанта *B. aequororis* 5-ДБ сохранялась после 22 часов культивирования с *E.coli* АТСС, *K. pneumoniae* АТСС 700693 и *B. cereus*, но полной остановки роста тест-штаммов не наблюдали. Во всех остальных вариантах ингибирующий эффект отсутствовал.

Ключевые слова: антагонизм, *Bacillus aequororis* 5- ДБ, условно-патогенные микроорганизмы.

Явление антагонизма широко распространено в природных сообществах. Антагонистическое действие проявляется у различных филогенетических групп микроорганизмов, например, у некоторых грибов по отношению к бактериям. Кроме того, антагонизм может быть интербактериальным [1]. Хорошо известна антагонистическая активность видов рода *Bacillus*. Поэтому они широко применяются в медицине, фармацевтике, сельском хозяйстве и ветеринарии в качестве продуцентов ферментов, метаболитов, биологически-активных веществ [2,3]. Все

большую популярность бациллы набирают в производстве пробиотиков для свиней, домашних птиц, телят и других животных. Так, например, в состав известных пробиотических продуктов для животноводства «Bio Plus2B» и «Microguard» входят *B. subtilis* и *B. licheniformis* [4]. Так как понимание антагонистических взаимоотношений микроорганизмов является важным условием создания эффективных микробных препаратов для практического применения, то изучение физиолого-биохимических свойств новых эффективных штаммов остаётся крайне актуальным.

Целью настоящей работы являлось изучение антагонистической активности штамма *Bacillus aequororis* 5-ДБ по отношению к условно-патогенным микроорганизмам.

Объектом исследования являлся штамм *B. aequororis* 5-ДБ, выделенный ранее из грунта территории содового шламохранилища АО «Березниковский содовый завод» [5]. Штамм выращивали на богатой среде следующего состава (г/л): пептон – 10, глюкоза – 10, дрожжевой экстракт – 5, K_2HPO_4 – 1, Na_2CO_3 – 10, pH 11. *B. aequororis* 5-ДБ обладал амилазной и липазной активностью [6]. Антагонистическое действие штамма-продуцента оценивали по росту условно-патогенных микроорганизмов в присутствии его метаболитов в культуральной среде по методике [7]. Индекс ингибирования определяли по формуле (1):

$$III = \frac{OP_{\text{контр}} - OP_{\text{опыт}}}{OP_{\text{контр}}} \cdot 100\% \quad (1)$$

Штамм *B. aequororis* 5-ДБ оказывал низкое ингибирующее действие на тест штаммы: *Escherichia coli* C55, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231, *E. coli* ATCC, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700693, *E. coli* АРЕС 37 и *B. subtilis* ATCC 6633. После 22 часов культивирования антагонистическая активность бесклеточного супернатанта *B. aequororis* 5-ДБ сохранялась в вариантах с *E. coli* ATCC, *K. pneumoniae* ATCC 700693 и *B. cereus*, но не останавливала их рост (таблица 1).

Таблица 1

Антагонистическая активность бесклеточного супернатанта
B. aequororis 5-ДБ. Индекс ингибирования роста тестируемых штаммов

Тестируемые штаммы	<i>B. aequororis</i> 5-ДБ	
	После 6 часов культивирования	После 22 часов культивирования
<i>E.coli</i> C55	22,2±1,8	0
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	21,4±1,2	0
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	11,2±2,6	0
<i>E.coli</i> ATCC	6,3±2,6	4,0±0,8
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700693	14,8±0,3	3,1±0,6
<i>E.coli</i> АРЕС 37	12,2±0,9	0
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	38,8±4,1	3,9±0,6

Таким образом, показано, что штамм алкалофильных бацилл обладает низким ингибирующим действием по отношению к условно-патогенным микроорганизмам.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Пермского края в рамках научного проекта № С-26/507.

Библиографический список

1. Peterson S. B. The central role of interbacterial antagonism in bacterial life / S. B. Peterson, S. K. Bertolli, J. D. Mougous // *Current Biology*. 2020. Т. 30. N 19. С. 1203–1214.
2. Kumar, P. Extending the limits of *Bacillus* for novel biotechnological applications/ P. Kumar, S. K. Patel, J. K. Lee, V. C. Kalia // *Biotechnology advances*. 2013. V. 31. N 8. P. 1543–1561.
3. Гращенкова К. В. Биотехнологическая переработка отходов производства птицы в ценный кормовой белково-пробиотический концентрат / К. В. Гращенкова, Е. Г. Ковалева, Д. Ю. Савиных // *Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии*. 2022. Т. 10. N 1. С. 58–66.
4. Markowiak P., Śliżewska K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition // *Gut pathogens*. 2018. Т. 10. N 1. С. 1–20.
5. Шилова А.В. Выделение и идентификация алкалотолерантных бактерий с гидролитической активностью из содового шламохранилища/ А.В. Шилова, А.Ю. Максимов, Ю.Г. Максимова // *Микробиология*. 2021. Т. 90. N 2. С. 155–165.

6. Максимова Ю.Г. Физиолого-биохимическая характеристика и биотехнологический потенциал гидролитических галоалкалолоторантных бактерий содового шламохранилища/ А.В. Шилова, А.Ю. Максимов, В. В. Егорова, В. А. Щетко//Известия российской академии наук. 2023. N 2. С. 149–159.

7. Kuznetsova M. V. Bacteriocin-Producing *Escherichia coli* Isolated from the Gastrointestinal Tract of Farm Animals: Prevalence, Molecular Characterization and Potential for Application / M. V. Kuznetsova, V. S. Mihailovskaya, N. B. Remezovskaya, M. Starčič Erjavec //Microorganisms. 2022. T. 10. N 8. С. 1558.

Оценка влияния автотранспорта на безопасность окружающей среды и здоровье населения урбанизированной территории

К. А. Заколадкин

ПГНИУ

Научный руководитель – д.м. н., профессор *О.Ю. Устинова*, ПГНИУ

Аннотация. в статье рассматриваются вопросы загрязнения окружающей среды выбросами автомобильного транспорта. Показано, что факторами риска для здоровья являются компоненты выбросов от автотранспорта: оксид углерода, углеводороды, альдегиды, твердые взвешенные вещества, свинец и многие другие. Вероятные последствия для здоровья выражаются в отравляющих действиях, снижению кровяного давления, отеку легких, росту легочных и бронхиальных заболеваний, раздражению слизистой оболочки глаз и многое другое. Предложены мероприятия по минимизации риска здоровью населения от выбросов автотранспорта, включающие в себя: внедрение альтернативных видов топлива, совершенствование функции двигателя, создания парковых зон, развитие дорожной инфраструктуры, создание зоны зелёных насаждений вдоль дорог и многие другие.

Ключевые слова: автотранспорт, атмосферный воздух, химические вещества.

В наше время влияние транспорта на окружающую среду является наиболее актуальной проблемой современного общества.

Выбросы от автотранспорта являются одним из существенных источников загрязнения окружающей среды и ведут к нарушениям в состоянии здоровья человека и загрязнению окружающей среды. Исследования показывают, что в среднем автомобилисты проезжают 10 000 км в год, сжигая 10 тонн бензина, расходуя 35 тонн кислорода и выбрасывая в атмосферу 160 тонн выхлопных газов. Среди них было обнаружено около 200 различных веществ. [1, 2].

Токсичные вещества, по химическому составу, свойствам, а также характеру воздействия на организм человека объединяют в группы:

К первой группе относятся нетоксичные вещества: кислород, азот, водяной пар, водород, углекислый газ и другие естественные компоненты воздуха.

К второй группе относят только одно вещество – оксид углерода, или угарный газ. Обладает отравляющим действием [3].

В состав третьей группы входят: оксид азота и диоксид азота. Вещество раздражает глаза, кожу и дыхательные пути.

В четвертую группу входят различные углеводороды: метан, этан, бензол, ацетилен и другие токсичные вещества. Углеводороды под действием излучения Солнца вступают в реакцию с оксидами азота, в результате образуются новые токсичные продукты – фотооксиданты, которые являются одними из основных компонентов смога. Фотооксиданты ведут к росту легочных и бронхиальных заболеваний у людей. [4].

Пятую группу составляют альдегиды – органические соединения. Альдегиды раздражают слизистые оболочки глаз и верхних дыхательных путей, вредно влияют на нервную систему.

В шестую группу входят твердые взвешенные вещества (сажа и другие дисперсные частицы), способные находиться во взвешенном состоянии в течение суток. Вещества проникают в легкие, вызывают респираторные заболевания и аллергию. [5].

Седьмая группа представляет собой соединения серы – сернистый ангидрид, сероводород, которые появляются в составе отработавших газов двигателей, если используется топливо с повышенным содержанием серы. Вызывают нарушение функций дыхания. Не исключено действие на слизистые оболочки, воспаление носоглотки, трахеи, бронхиты, кашель, хрипота и боль в горле.

К компонентам восьмой группы относят – свинец и его соединения. Накапливается в организме человека, оказывает влияние на нервную и сердечно – сосудистую систему. [6].

Население, проживающее вблизи проезжей части, наиболее подвержены заболеваниям органов дыхания, крови, нервной и сердечно-сосудистой системы, т.к. в выбросах содержится множество вредных веществ, которые опасны для здоровья людей [7].

Мероприятий по снижению объемов выбросов и уменьшение концентраций загрязняющих веществ в атмосферном воздухе, является одним из основных по охране окружающей среды города. К таким мероприятиям относятся: внедрение альтернативных видов топлива; улучшение аэродинамических характеристик автомобиля и совершенствование функции двигателя; создания парковых зон вблизи крупных магистралей; развитие дорожной инфраструктуры; создание зоны зелёных насаждений вдоль дорог; повышенный налог для владельцев машин с большим объёмом двигателя; установка в автомобиле системы каталитической очистки выхлопных газов (катализаторов).

Предложенные решения могут улучшить показатели атмосферного воздуха городов России.

Библиографический список

1. Козлов А. Т. Особенности экологического кризиса на примере крупного промышленного города / А. Т. Козлов, Л. В. Тринева, Н. Л. Прохорова // Проблемы охраны окружающей среды современного города. – Воронеж: Изд-во Кривичи, 2005. – 125 с.
2. Аксенов И.Я. Аксенов В.И. Транспорт и охрана окружающей среды. – М.: Транспорт, 1986
3. Бурков, В.Н. Экологическая безопасность: учебное пособие / В.Н. Бурков, А.В. Щепкин. – М.: Изд-во Химия, 2003. – 429 с.
4. Безуглая, Э.Ю. Воздух городов и его изменения / Э.Ю. Безуглая, И.В. Смирнова. – Санкт-Петербург: Изд-во Астерион, 2008. – 252 с.
5. Аналитический обзор. Качество воздуха в крупнейших городах России – Санкт-Петербург: Изд-во Астерион, 2009. – 60 с.
6. Амбарцумян, В.В. Экологическая безопасность автомобильного транспорта / В.В. Амбарцумян, В.Б. Носов, В.И. Тагасов. – М.: Изд-во Научтехлитиздат, 1999. – 78 с.
7. РД 52.04.667-2005. Документ о состоянии загрязнения атмосферы в городах для информирования государственных органов, общественности и населения: Введ. 01.02.2006. – Москва: Метеоагентство Росгидромета, 2006. – 35 с

Оценка влияния нефтеперерабатывающих и нефтехимических предприятий на безопасность окружающей среды и здоровье населения урбанизированной территории

А.В. Зубарев

ПГНИУ

Научный руководитель – д.м. н., профессор *О.Ю. Устинова*, ПГНИУ

Аннотация. Выполнен обзор потенциальной опасности влияние выбросов объектов нефтепереработки и нефтехимии, расположенных в черте города, на здоровье человека. В статье представлена характеристика важнейших химических веществ, поступающих от источников предприятий данной отрасли и загрязняющих атмосферный воздух. Обоснована актуальность оценки риска для здоровья населения урбанизированных территорий с развитой нефтехимической и нефтеперерабатывающей промышленностью.

Ключевые слова: риск здоровью, нефтепереработка, нефтехимия

Нефтеперерабатывающие и нефтехимические предприятия являются одними из значимых источников загрязнения окружающей среды, в том числе атмосферного воздуха. Зона загрязнения воздуха мощных нефтеперерабатывающих заводов простирается на расстояние 20 и более километров. Основными источниками выбросов в атмосферу являются технологические установки, вентиляционные системы, градирни, дымовые трубы, предохранительные клапаны, постоянно действующие факелы, не герметичность аппаратуры, а также незапланированные залповые и аварийные выбросы [1].

Цель – выполнить обзор потенциальной опасности влияние выбросов объектов нефтепереработки и нефтехимии, расположенных в черте города, на здоровье человека.

Количество выделяющихся вредных веществ определяется мощностью НПЗ и составляет (процент от мощности предприятия): углеводороды – 1,5-2,8; сероводород 0,0025 – 0,0035 на 1 % серы в нефти; оксид углерода 30-40% от массы сжигаемого топлива; сернистый ангидрид 200% от массы серы в сжигаемом топливе. Потери углеводородов поступают в атмосферу (75%), в воду (20%) и в почву (5%) [2].

Риски для здоровья населения в первую очередь формируются в результате загрязнения атмосферного воздуха такими примесями, как диоксид азота, диоксид серы, сероводород, бензол, а наибольший уровень опасности формируется в отношении болезней органов дыхания [3].

Исследования [4,5] показывают, что дети, живущие вблизи нефтехимических и нефтеперерабатывающих предприятий, чаще страдают астмой, обострением астмы, чаще проявляются такие респираторные симптомы такие, как частые хрипы в покое и при пробуждении, ночной кашель, ринит и одышка.

В исследовании [6], выявляется связь близости населения к нефтеперерабатывающему заводу с повышенным риском развития нескольких типов рака у данного населения, также наблюдалось статистически значимое повышение риска регионального и метастатического заболевания в зависимости от близости к нефтеперерабатывающему заводу. Результаты современного исследования [7] показывают, что риск развития лейкемии у жителей населенных пунктов, расположенных менее чем в 5 км от нефтехимического предприятия или нефтеперерабатывающего завода, был на 30% выше, чем у жителей сообществ, в которых не ведется нефтехимическая деятельность и авторами подчеркивается необходимость дальнейшей политики по регулированию выпуска канцерогенов промышленностью. Исследование по оценке заболеваемости лейкемией в районе крупного нефтеперерабатывающего завода, выделяющего канцерогенные летучие органические соединения, в том числе бензол [8], также отмечает причинно-следственную связь между выбросами данных веществ и заболеваемостью лейкемией.

В отношении риска заболеваний нервной и иммунной системы наиболее значимы выбросы производства по смешению топлив (факторы риска: бензол, толуол, метил-трет-бутиловый эфир и пр.); в отношении болезней крови – производство компонентов топлив (факторы риска: бензол, оксид углерода, окислы азота) [3].

В выбросах нефтехимических и нефтеперерабатывающих предприятий содержится множество токсичных веществ, в том числе канцерогенных. Содержание данных выбросов является опасным в первую очередь для дыхательной системы организма человека, а в последствие для других систем. Для минимизации рисков здоровью населения предприятиям нефтехимической и нефтеперерабатывающей отрасли следует модернизировать средства производства, внедрять наилучшие доступные технологии, минимизировать выбросы от различных источников производства.

Вместе с тем, комплекс природоохранных мероприятий может быть эффективным только при условии корректной оценки уровней формируемых рисков для здоровья в каждом конкретном условиях и выделения вклада отдельных химических веществ в эти риски.

Библиографический список

1. Шахова Т. С. Влияние нефтеперерабатывающих заводов на эколого-геохимическую обстановку прилегающих территорий по данным изучения снегового покрова (на примере гг. Омск, Ачинск, Павлодар) : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата геолого-минералогических наук : спец. 25.00.36 / Т. С. Шахова ; Национальный исследовательский Томский политехнический университет ; науч. рук. Е. Г. Язиков. — Томск, 2018. — 198 с.

2. Егорова, Г. И. Отходы нефтехимических производств / Г. И. Егорова, И. В. Александрова, А. Н. Егоров ; Тюменский государственный нефтегазовый университет. — Тюмень : Тюменский индустриальный университет, 2014. — 126 с.

3. Сравнительный анализ экологической безопасности производств крупного нефтеперерабатывающего предприятия по критериям риска для здоровья населения / И. В. Май, С. А. Вековщина, С. В. Клейн, С. Ю. Балашов, В. С. Евдошенко // Медицина труда и промышленная экология. — 2011. — № 11. — С. 11-16.

4. F. A. Wichmann, A. Müller, L. E. Busi, N. Cianni, L. Massolo, UweSchlink, A. Porta, P. D. Sly. Increased asthma and respiratory symptoms in children exposed to petrochemical pollution // Journal of Allergy and Clinical Immunology. — 2009. — Vol. 123. — P. 632-638.

5. White, N., teWaterNaude, J., van der Walt, A. et al. Meteorologically estimated exposure but not distance predicts asthma symptoms in schoolchildren in the environs of a petrochemical refinery: a cross-sectional study.. // Environ Health. — 2009. — Vol. 8. — P. 45.

6. S. B. Williams, Y. Shan, UsamaJazzar, P. S. Kerr, IkennaOkereke, V. S. Klimberg, D. S. Tyler, NagireddyPutluri, D. S. Lopez, J. D. Prochaska, CornelisElferink, J. G. Baillargeon, Y.F. Kuo, H. B. Mehta. Proximity to Oil Refineries and Risk of Cancer: A Population-Based Analysis // JNCI Cancer Spectrum. — 2020. — Vol. 4. — P. 88.

7. J. C, Brown D, Verbeek T, Mah A. A systematic review and meta-analysis of haematological malignancies in residents living near petrochemical facilities // Environ Health. — 2020. — Vol. 19. — P. 53.

8. Barregard L, Holmberg E, Sallsten G. Leukaemia incidence in people living close to an oil refinery // EnvironRes. — 2009. — Vol, 8. — P. 109.

Определение содержания формальдегида в крови детского населения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

М.В. Исакова

ПГНИУ

Научный руководитель – д.м.н. *О.Ю. Устинова*,

ФБУН ФНЦ Медико-профилактических технологий управления
рисками здоровью населения

Аннотация. Формальдегид является одним из наиболее распространенных промышленных химических веществ, используемых в производстве мебели, текстиля, строительных материалов и других товаров. Его токсичность может привести к серьезным заболеваниям, таким как рак и астма. Определение содержания формальдегида в крови детского населения является важной задачей, так как дети являются наиболее уязвимой группой населения. Они имеют более высокий риск воздействия токсичных веществ из-за более высокой скорости дыхания и метаболизма.

Ключевые слова: формальдегид, биомониторинг, химический анализ.

Формальдегид относится к числу наиболее известных поллютантов атмосферного воздуха. Формальдегид, повсеместно существующий в атмосферном воздухе как городских, так и сельских районов, является наиболее распространенным соединением, составляя до 70–80% от их общего содержания [1, 3]. К одному из основных антропогенных источников поступления формальдегида в воздушную среду следует отнести автомобильный транспорт. Кроме того, формальдегид образуется за счет фотохимических реакций и процессов трансформации органических соединений, загрязняющих атмосферный воздух, таких как метан, метиловый спирт, муравьиная кислота, хлорпроизводные метана и т.д. [2]. В связи с широким распространением формальдегида в окружающей среде и его потенциальной опасностью для здоровья населения необходимо контролировать его содержание в объектах окружающей среды и биологических средах.

С целью определения содержания формальдегида в крови детского населения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии было проанализировано 180 проб крови.

Результаты среднегрупповых концентраций формальдегида в крови детского населения, проживающих на территории Пермского края представлены в таблице 1.

Оценку среднегрупповых концентраций проводили при сравнении полученных значений на территориях Пермского края с РФУ (региональным фоновым уровнем) содержания формальдегида в крови у детей. Для установления регионального фонового уровня концентрации формальдегида в биологических средах детей Пермского региона была обследована контрольная группа детей, проживающих на экологически чистых территориях ряда районов Пермского края – Большесосновского, Карагайского, Кишертского, Сивинского, Суксунского. При анализе экологической ситуации этих районов не установлено превышений предельно допустимых концентраций содержания формальдегида в объектах окружающей среды (атмосферный воздух, вода питьевая). В результате проведенных исследований по установлению РФУ на территории Пермского региона средняя групповая концентрация формальдегида в крови у детей составила $0,0050 \pm 0,0014$ мг/дм³.

Таблица 1

Среднегрупповые концентрации формальдегида в крови детей в возрасте 4-14 лет, проживающих на территориях Пермского края

Территория	Региональный фоновый уровень (РФУ), n=110 (M±m), мг/дм ³	Средняя групповая концентрация в крови (M±m), мг/дм ³	Различие с РФУ по средним (р)	% проб выше РФУ	Кратность отклонения (M±m) группы наблюдения к группе сравнения
г. Березники	0,005±0,0014	0,023±0,006	<0,05	100%	4,6
г. Александровск	0,005±0,0014	0,025±0,007	<0,05	100%	4,9
г. Кунгур и Кунгурский район	0,005±0,0014	0,026±0,007	<0,05	100%	5,2
г. Лысьва и Лысьвенский район	0,005±0,0014	0,027±0,007	<0,05	100%	5,3
г. Кизел	0,005±0,0014	0,027±0,007	<0,05	100%	5,4
г. Оса и Осинский район	0,005±0,0014	0,030±0,008	<0,05	100%	5,9
г.Верещагино	0,005±0,0014	0,030±0,008	<0,05	100%	6,0
г. Чайковский и Чайковский район	0,005±0,0014	0,030±0,008	<0,05	100%	6,0

Окончание табл. 1

г.Соликамск	0,005±0,0014	0,030±0,008	<0,05	100%	6,0
г.Краснокамск	0,005±0,0014	0,030±0,008	<0,05	100%	6,1
г.Чернушка и Чернушинский район	0,005±0,0014	0,030±0,008	<0,05	100%	6,1
г.Пермь и Пермский край	0,005±0,0014	0,031±0,008	<0,05	100%	6,2
г.Чусовой и Чусовской район	0,005±0,0014	0,031±0,008	<0,05	100%	6,3
Среднее значение, Пермский край	0,005±0,0014	0,028±0,008	<0,05	100%	5,6

Среднегрупповые концентрации формальдегида в крови детского населения, проживающих на изучаемых территориях Пермского края определены в диапазоне от $0,023 \pm 0,006$ мг/дм³ до $0,031 \pm 0,008$ мг/дм³.

Установлены достоверные различия с РФУ по средним значениям ($p < 0,05$) на всех территориях края.

Процент проб выше РФУ на всех территориях Пермского края 100 %. Кратность превышения РФУ составила 4,6-6,3 раза.

На рисунке 1 представлена гистограмма распределения среднегрупповых концентраций формальдегида в крови у детей, проживающих на промышленных территориях Пермского края.

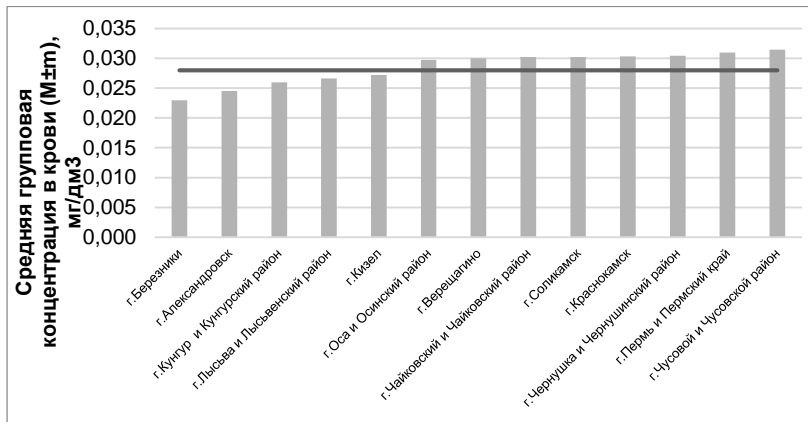


Рисунок 1. Распределение среднегрупповых концентраций формальдегида в крови у детей в возрасте 4-14 лет, проживающих на территории Пермского края

Максимальная среднегрупповая концентрация формальдегида у детей определена на территории г. Чусовой и его района, минимальная на территории г. Березники.

Выше среднего по краю значения содержания формальдегида в крови детей в группах определены на территориях г. Оса и Осинского района, г. Верещагино, г. Чайковский и Чайковского района, г. Соликамск, г. Краснокамск, г. Чернушка и Чернушинского района, г. Пермь и Пермского района и г. Чусовой и Чусовского района.

Ниже среднего краевого значения содержания формальдегида в крови детей на территории Пермского края установлены в группах г. Березники, г. Александровск, г. Кунгур и Кунгурский район, г. Лысьва и Лысьвенский район и г. Кизел.

Библиографический список

1. Дорогова В.Б., Тараненко Н.А., Рычагова О.А., Формальдегид в окружающей среде и его влияние на организм (обзор) 2010 // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2010. №1. С 23–35.
2. Захарова А.В. Влияние формальдегида на организм // Международный студенческий научный вестник. 2014. № 3. С 32–35.
3. Халиков И.С. Формальдегид в атмосферном воздухе: источники поступления и пути удаления // Экологическая химия. 2019. Т 28. №6. С307–317.

Влияние объектов накопленного вреда на окружающую среду и здоровье населения

О.А. Казакова

ПГНИУ

Научный руководитель – к.т.н., *Д.А. Кирьянов*, ПГНИУ

Аннотация. Проблема распространения и влияния объектов накопленного вреда на окружающую среду и здоровье населения оценивается в больших масштабах, она затрагивает многие развитые страны. В Российской Федерации ликвидация данных объектов закреплена на законодательном уровне. Одним из объектов накопленного вреда окружающей среде является пруд-накопитель кислотных отходов в Самарской области, его негативное влияние сказывается на всех компонентах окружающей среды, а также несет угрозу здоровью населения.

Ключевые слова: объект накопленного вреда, окружающая среда, здоровье населения.

В Российской Федерации (РФ) экологическая ситуация характеризуется высоким уровнем антропогенного воздействия на природную среду, в результате которого на территории страны возникли зоны экологического риска – объекты накопленного вреда окружающей среде (ОНВОС). Со временем эти объекты, содержащие опасные загрязняющие вещества, становятся источниками негативного воздействия на состояние окружающей среды и человека. По данным Роспотребнадзора приблизительная численность населения страны, подверженная негативному экологическому влиянию в 2021 г., составила 63,6% [1]. Проблема ОНВОС затрагивает большинство развитых стран, каждая из которых формирует собственную систему правовых и организационных решений [2]. На данный момент в РФ на законодательном уровне закреплены задачи ликвидации таких объектов, что определяет актуальность исследования.

Целью работы является установление влияния объектов накопленного вреда на окружающую среду и здоровье населения.

В РФ, согласно официальным цифрам Министерства природных ресурсов и экологии, насчитывается около 2000 объектов НВОС, которые определяются как приоритетные. Влияние ОНВОС – проблема мирового масштаба, поэтому его ликвидация входит в число приоритетных задач развитых стран, в законодательстве которых есть несколько общих черт: ответственность за устранение таких объектов возлагается на собственника загрязненной территории, в случае, если собственника установить невозможно, финансирование восстановительных мероприятий берет на себя государство; в целях установления объема загрязнения на территории проводятся специальные обследования, которые относятся к полномочиям органов местной власти; ведется специальный реестр загрязненных территорий, их очистки и восстановления; многие страны ликвидируют накопленный вред окружающей среде в рамках политики восстановления земель [4].

Также в ходе работы были рассмотрены методы ликвидации ОНВОС, которые применяются в РФ, основными являются: сортировка отходов, аэрация, компостирование, сжигание отходов, стабилизация, фильтрация [5]. Несмотря на предпринятые меры по ликвидации таких объектов, их негативное влияние на окружающую среду и здоровье населения все же велико. Это подтверждается картой-схемой (рисунок 1), которая наглядно отображает объекты НВОС на территории субъектов РФ, требующие первоочередной ликвидации.



Рисунок 1 – Площадь территории (акватории), подверженной негативному воздействию, в га

По представленным на рисунке 1 данным, можно сделать вывод, что на территории Приволжского и Сибирского федеральных округов наблюдается большее загрязнение площади территории объектами накопленного вреда, по сравнению с другими округами.

Также в рамках данной работы была проведена комплексная эко-

лого-гигиеническая оценка объекта – Технический пруд-накопитель кислотных отходов от бывшего сланцеперерабатывающего завода, расположенного в Самарской области, в границах городского округа Сызрань, в ходе которой было выявлено влияние конкретного объекта НВОС на компоненты окружающей среды.

Лабораторное исследование отобранных образцов атмосферного воздуха в результате показало наличие превышений ПДК в среднем по показателям: хлористый водород в 1,9 раза; хлор в 2,1 раза; фенол в 2,3 раза. В почве на территории ОНВОС основными загрязняющими веществами являются нефтепродукты, цинк, нитритный азот, серная кислота (по сере), медь, никель, свинец. Образцы отходов из прудонакопителя были определены к IV и V классу опасности. Измерения отобранных образцов в поверхностных водных объектах, показали наличие превышений ПДК в среднем по показателям: БПК₅ в 1,1 раза; железо в 1,2 раза; марганец в 3,5 раза; сульфат-ион в более чем в 2 раза; хлорид-ион в 1,25 раза. В результате испытаний отобранных образцов донных отложений было выявлено, что они загрязнены равномерно, превышение содержания веществ, относительно фоновой точки, выявлено только по содержанию цинка в Саратовском водохранилище (в месте сброса отмечено превышение в 81 раз, в точке ниже сброса – в 114 раз).

О влиянии данного объекта на здоровье живущего поблизости населения можно лишь предполагать. Оно может проявляться в возникновении заболеваний различных форм и типов, например, накопление в организме тяжелых металлов ведет к риску развития сердечно-сосудистых заболеваний, а воздействие нефтепродуктов на организм человека выражается в острых и хронических отравлениях [3].

Таким образом, проблема ОНВОС очень актуальна и важна на настоящий момент времени. Она несет материальный, моральный и социальный вред. Главное отрицательное последствие данной проблемы в конечном итоге будет являться причинение вреда здоровью и жизни, как каждого гражданина, так и общества в целом. Поэтому необходимо дальнейшее исследование данной темы.

Библиографический список

1. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2021 году» // Министерство природных ресурсов и экологии: сайт. URL: <https://www.mnr.gov.ru> (дата обращения: 09.04.2023).

2. Зайцева Н.В., Май И.В., Клейн С.В., Кирьянов Д.А., Андришунас А.М., Слюсарь Н.Н., Максимова Е.В., Камалтдинов М.Р. К задаче оценки влияния объектов накопленного вреда окружающей среде на здоровье граждан и продолжительность их жизни // Анализ риска здоровью. 2022. №1. С. 4-16.

3. Рахманин Ю.А., Русаков Н.В., Самутин Н.М. Отходы как интегральный эколого-гигиенический критерий комплексного воздействия на окружающую среду и здоровье населения // Гигиена и санитария. 2015. Том 94, №6. С. 5-10.

4. Соловьянов А.А. Прошлый (накопленный) экологический ущерб: проблемы и решения. 3. опыт стран Западной Европы // Экологический вестник России. 2015. №5. С. 18-27.

5. Соловьянов А.А., Чернин С.Я. Ликвидация накопленного вреда окружающей среде в Российской Федерации. М.: Наука РАН, 2017. 194-203 с.

Влияние сочетанного воздействия климата и химического загрязнения окружающей среды на заболеваемость взрослого населения промышленных территорий Крайнего Севера

И.А. Канюкова

ПГНИУ

Научный руководитель: д. м.н., профессор **О.Ю. Устинова**, ПГНИУ

Аннотация: В статье дан краткий анализ материалов обследования населения Крайнего Севера, а именно городов Норильск и Дудинка. Целью исследования являлось выявление особенности сочетанного воздействия химического загрязнения атмосферного воздуха и условий сурового климата Крайнего Севера на состояние сердечно-сосудистой системы взрослого населения. Использованы стандартные клинические исследования сердечно-сосудистой системы. В ходе медико-социологического и клинического обследования было установлено, что пациенты из г. Норильска имеют высокий уровень социально-экономических условий проживания, чаще обращаются с жалобами со стороны сердечно-сосудистой системы с более активным формированием артериальной гипертензии, а также наблюдается более выраженный характер проявления признаков атеросклероза с образованием атеросклеротических бляшек.

Ключевые слова: сердечно-сосудистая система, артериальная гипертензия, Крайний Север.

Актуальность проблемы обусловлена активным освоением арктической зоны РФ в последние десятилетия, где находятся промышленные комплексы. Проблема становится все более очевидной при условиях сурового климата, быстрого изменения характера производства, количественных компонентов, загрязняющих окружающую среду, роста источников поступления вредных веществ в атмосферу. [1, 2]

Атмосфера подвергается постоянному воздействию различных химических веществ, концентрации которых нередко превышают ПДК. Загрязненный воздух содержит твердые частицы разных размеров, и газы, что приводит к сердечно-сосудистым патологиям. Сочетанное воздействие климата и химического загрязнения взаимно потенцируют их негативному влиянию на сердечно-сосудистую систему. [3]

Суровые климатические условия характерны для Арктического типа климата. Он представлен на Крайнем Севере Сибири, примером может

являться гг. Норильск и Дудинка. Город Норильск – это крупный промышленный центр РФ, который из года в год входит в десятку самых грязных городов России. [4]

Различные экологические и климатические факторы пагубно влияют на все системы человека, в том числе и на сердечно-сосудистую, тем самым снижая трудовой потенциал. В России примерно 31 млн. человек страдает заболеваниями сердечно-сосудистой системы, что негативно отражается на трудоспособном населении. [5]

Целью данной работы является выявление особенности сочетанного воздействия химического загрязнения атмосферного воздуха и условий сурового климата Крайнего Севера на состояние сердечно-сосудистой системы взрослого населения.

В обследовании участвовало 233 человека г. Норильска (группа наблюдения) и 100 человек г. Дудинка (группа сравнения). Общее количество обследованного взрослого населения – 333 человека.

Объектом исследования являлось: состояние функциональных и морфологических характеристик сердечной сосудистой системы у взрослого населения трудоспособного возраста.

Предметом исследования являлись: данные анкет, морфологического состояния брахиоцефальных сосудов, функциональная активность эндотелия сосудов, вегетативной нервной системы, морфологическое состояние сердечной мышцы.

В ходе медико-социологического и клинико-функционального обследования взрослого населения были проведены сбор первичной информации о действующих факторах риска развития заболеваний; клиническое общесоматическое и специализированное кардиологическое обследование пациентов; исследование методами ультразвуковой диагностики; исследования методами электрокардиографии; статистическая обработка данных.

Сравнительный анализ и оценка результатов анкетирования взрослого населения гг. Норильска и Дудинки, выполненного при углубленном обследовании, подтвердил более высокий уровень социально-экономических условий проживания группы наблюдения относительно группы сравнения.

В исследуемых группах предъявляли жалобы на периодические головные боли, снижение работоспособности и настроения, ухудшение самочувствия и нарушение сна, что связывали с неблагоприятными климатическими условиями, с наличием периода полярной ночи и неблагоприятными экологическими условиями на территории проживания.

В ходе клинического обследования было выявлено, что пациенты группы наблюдения чаще обращаются с жалобами со стороны сердечно-сосудистой системы с более активным формированием артериальной гипертензии – каждый десятый обследованный пациент группы наблюдения имел повышенные показатели артериального давления. В половине случаев нарушение гомеостаза артериального давления пациенты связывали с ухудшением качества атмосферного воздуха, в каждом третьем случае – с периодом полярной ночи.

Доли лиц с признаками атеросклероза в группе наблюдения и группе сравнения были близки между собой, однако, в группе наблюдения процесс носил более выраженный характер и сопровождался образованием атеросклеротических бляшек при отсутствии таковых в группе сравнения. Анализ результатов эхокардиографии показал, что в г. Норильске выявлена большая доля лиц с меньшей фракцией выброса камер сердца, чем в г. Дудинке

Библиографический список

1. Волгин, Н. А. Российская Арктика: социально-трудовые и демографические особенности развития // Социально-трудовые исследования. – 2019. – № 1.
2. Плакиткина Л.С., Плакиткин Ю.А., Дьяченко К.И. Развитие добычи угля в арктической зоне Российской Федерации: состояние и потенциал развития // Уголь. – 2022. – С. 71-77.
3. Герман С. В., Бобровницкий И.П., Балакаева А.В. Влияние загрязнения воздуха твёрдыми взвешенными частицами на развитие болезней системы кровообращения (обзор литературы) // Гигиена и санитария. – 2021. – №6. – С. 555-558.
4. Шерстюков Б.Г., Климатические условия Арктики и новые подходы к прогнозу изменения климата // Арктика и Север. – 2016. – №24. – С. 39-67.
5. Глушенко В.А., Иркиенко Е.К. Сердечно-сосудистая заболеваемость – одна из важнейших проблем здравоохранения // Медицина и организация здравоохранения. – 2019. – №1. – С. 56-63.

Влияние углеводов на экспрессию генов *alkB* у родококков

Л.П. Комарова^{1,2}, А.В. Криворучко^{1,2}

¹ ПГНИУ, ² ПФИЦ УрО РАН

Аннотация. Геном *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 полностью секвенирован, в нём обнаружено два гена *alkB*, кодирующих синтез алкан-1-монооксигеназ. Установлено, что оба гена экспрессируются в присутствии алканов с длиной цепи от 3 до 16 атомов углерода, при этом наиболее высокий уровень экспрессии наблюдается в присутствии алканов C3–C4 и C9–C12.

Ключевые слова: бактерии рода *Rhodococcus*, экспрессия генов, алкан-1-монооксигеназы AlkB

Актиномицеты рода *Rhodococcus* способны окислять широкий спектр органических соединений, в том числе опасные экополлютанты. Развитые катаболические свойства *Rhodococcus* связаны с разнообразием синтезируемых ими ферментов, способных окислять различные углеводороды. Это алкан-1-монооксигеназы AlkB, цитохром-P450-зависимые монооксигеназы, метан/пропан монооксигеназные комплексы, диоксигеназы, лакказы, пероксидазы, дегидрогеназы [1–3]. Субстратная специфичность этих ферментов, их участие в окислении конкретных соединений, метаболические пути биodeградации поллютантов родококками мало изучены [4]. В геноме биотехнологически перспективного штамма *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231, обладающего высокой углеводородокисляющей активностью и способного к активной продукции биосурфактантов, обнаружено 2 гена *alkB*, кодирующих синтез алкан-1-монооксигеназ [2].

Цель работы – исследование влияния углеводов на экспрессию генов алкан-1-монооксигеназ *alkB* у родококков.

Материалы и методы. В работе использовали штамм *R. ruber* ИЭГМ 231 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WFCC #285, ЦКП 480868, УНУ 73559, <http://www.iegmc01.ru>) [5]. Родококки выращивали в богатой питательной среде Луриа-Бертани (LB, Sigma-Aldrich, США) и минерально-солевых средах RS и K. В минеральных средах в качестве един-

ственного источника углерода и энергии использовали один из субстратов: D-глюкоза, глицерин, пропан, *n*-бутан, *n*-пентан, *n*-гексан, *n*-гептан, *n*-октан, *n*-нонан, *n*-декан, *n*-ундекан, *n*-додекан, *n*-тетрадекан, *n*-гексадекан, пристан, ксилол, нафталин, фенатрен (все х.ч, Sigma- Aldrich, США). Субстраты вносили в концентрации 0,1 вес. %, культивирование осуществляли при 160 об/мин, 28°C в течение 2–5 сут. Культивирование родококков в присутствии пропана и *n*-бутана осуществляли в эксикаторах на чашках Петри с агаризованной средой К в атмосфере пропан/*n*-бутан: воздух 1:4 стационарно при 28 °С. Клетки разрушали с помощью металлических шариков в гомогенизаторе FastPrep-24 5G (MP Biomedicals, США). РНК выделяли с использованием набора RNeasy Mini Kit (Qiagen, США). Для получения кДНК на матрице РНК проводили полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с использованием набора реактивов с ревертазой MMLV (Евроген, Москва). Концентрацию РНК и кДНК определяли с помощью нанофотометра NanoPhotometer® N50 (Implen, Германия). ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) проводили с использованием амплификатора Real-Time CFX Connect (BioRad, США), набора реактивов с Taq ДНК-полимеразой производства “Евроген” (Москва) и праймерами к гену 16S рРНК (положительный контроль) или генам *alkB1* и *alkB2*. ПЦР-продукты детектировали после электрофореза в агарозном геле с помощью системы гель-документирования Bio-Rad Gel Doc XR+ (BioRad, США). Уровни экспрессии генов оценивали по данным количественной ПЦР-РВ в программе CFX Manager™ Software согласно руководству, к амплификатору Gene Expression Analysis, Quick Guide. В качестве контроля использовали уровни экспрессии исследуемых функциональных генов при культивировании клеток *R. ruber* ИЭГМ 231 в LB.

Результаты. Установлено, что оба гена *alkB* экспрессируются в клетках *R. ruber* ИЭГМ 231 в присутствии всех исследуемых субстратов (рис. 1). В присутствии *n*-алканов C3–C4 и C8–C16 выявлено увеличение в 2–350 000 раз уровня экспрессии какого-либо одного, в отдельных случаях, одновременно двух генов *alkB* по сравнению с контролем – клетками, выращенными в среде LB (рис. 2). Наиболее высокое увеличение уровня экспрессии, более чем в 37 раз, происходит в присутствии алканов C3–C4 и C9–C12. Показано, что ген 16S рРНК не может быть использован в качестве референсного при определении уровней экспрессии функциональных генов у родококков, растущих в средах с углеводородами, так как экспрессия данного гена в присутствии алканов увеличивается в 200–240 тыс. раз.

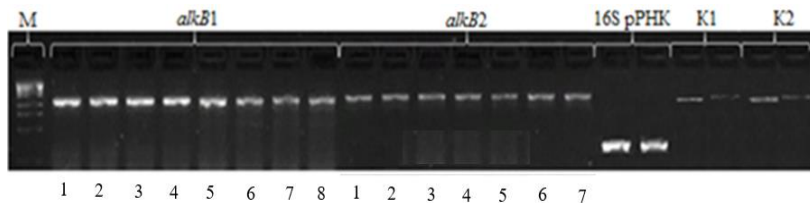


Рис. 1. Электрофореграммы ампликонов, полученных при проведении ПЦР-РВ с праймерами к генам *alkB1* и *alkB2* штамма *R. ruber* ИЭГМ 231. Клетки выращивали в средах с углеводородами: 1 – пропаном, 2 – *n*-октаном, 3 – *n*-деканом, 4 – *n*-ундеканом, 5 – *n*-додеканом, 6 – *n*-тетрадеканом, 7 – *n*-гексадеканом, 8 – пристаном. K1 – среда LB, K2 – минерально-солевая среда RS с 0,1 об. % глюкозы. M – маркер молекулярного веса ДНК, 250–3000 п.н. Ген *alkB1* располагается в геноме *R. ruber* ИЭГМ 231 с 994494 по 995645 п.н. и имеет размер 1152 п.н., *alkB2* располагается с 5097029 по 5098252 п.н. и имеет размер 1224 п.н.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о широкой субстратной специфичности алкан-1-монооксигеназ *R. ruber* в отношении *n*-алканов, участвующих в окислении *n*-алканов C3–C16. При этом наиболее предпочтительными субстратами для данных ферментов являются *n*-алканы C3–C4 и C9–C12.

Работа выполнена в рамках госзадания 122031400671-1.

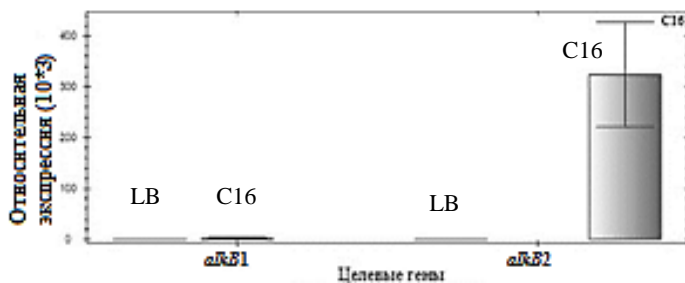


Рис. 2. Уровни экспрессии генов *alkB* в клетках *R. ruber* ИЭГМ 231 в LB и среде с *n*-гексадеканом (C16).

Библиографический список

1. Ившина И.Б., Куюкина М.С., Каменских Т.Н., Криворучко А.В., Тюмина Е.А., Елькин А.А. Углеводородокисляющие родококки: осо-

бенности биологической организации под воздействием эконополлютантов. Монография-атлас / Под ред. И.Б. Ившиной. – УрО РАН, 2021. – 140 с.

2. Cappelletti M., Zampolii J., Zannoni D. Genomics of *Rhodococcus* // Biology of *Rhodococcus* / Ed. by H.M. Alvarez. – Springer Nature Switzerland AG 2019. – P. 23–60.

3. Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivoruchko A.V., Barbe V., Fischer C. Draft genome sequence of propane- and butane-oxidizing actinobacterium *Rhodococcus ruber* IEGM 231 // Genome Announcements. – 2014. – V. 2, No. 6. – e01297-14.

4. Koch D.J., Chen M.M., van Beilen J.B., Arnold F.H. *In vivo* evolution of butane oxidation by terminal alkane hydroxylases AlkB and CYP153A6 // Applied and Environmental Microbiology. – 2009. – V.75, No. 2. – P. 337–344.

5. Regional specialised collection of alkanotrophic microorganisms [Электронный ресурс] URL: <http://www.iegmcoll.ru/medium/med11.html>.

Особенности территориального распределения объектов накопленного вреда

А.П. Лысюк

ПГНИУ

Научный руководитель – канд. техн. наук *Д.А. Кирьянов*, ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»

Аннотация. В работе проведен анализ территориального распределения объектов накопленного экологического вреда на территории России. Анализ показал, что наибольшее количество объектов находится в западной части страны, где проживает основная масса населения. Большую часть объектов накопленного вреда составляют несанкционированные свалки и полигоны твердых коммунальных отходов. К наиболее загрязненным регионам относятся Ставропольский край, Кабардино-Балкарская Республика и Республика Крым.

Ключевые слова: накопленный вред окружающей среде, объект накопленного вреда, территориальное распределение

На сегодняшний день, на территории Российской Федерации насчитывается около 2000 объектов накопленного экологического вреда.

© Лысюк А.П., 2024

Большая их часть осталась в основном со времен СССР, когда происходила повсеместная индустриализация. Проблема негативного влияния объектов накопленного вреда ведет к увеличению заболеваемости и смертности, снижению темпов экологического роста и является одним из факторов ухудшения качества экологических условий проживания более 17 миллионов россиян [4]. К объектам накопленного вреда относят свалки и полигоны ТКО, шламонакопители, отвалы горных пород и множество других объектов, которые несут опасность для здоровья людей и окружающей среды [3].

Для выявления, учета и оценки таких объектов существует государственный реестр объектов накопленного вреда (ГРОНВОС), формирование и ведение которого осуществляется на основании Федерального закона от 10.01.2002 № 7-ФЗ «Об охране окружающей среды» и ряда нормативно правовых актов, направленных на выявление оценки и учет объектов накопленного вреда на территории Российской Федерации. Однако из-за отсутствия четкой структуры этого реестра и существующих пробелов в природоохранном законодательстве, оценка и систематизация объектов проходит неполноценно, что вызывает сложности при выделении приоритетных объектов для дальнейшей ликвидации [1,2].

Целью работы является изучение особенностей территориального распределения объектов накопленного вреда на территории Российской Федерации.

Для получения информации о местоположении объектов использовались кадастровые номера земельных участков, на которых они расположены. С помощью публичной кадастровой карты на сайте Федеральной службы государственной регистрации, кадастра и картографии, были получены точные координаты расположения данных участков. Для создания карты пространственного распределения объектов накопленного вреда использовалась геоинформационная система QGIS. На карту наносились точки, отображающие расположение объектов согласно полученным координатам. Также на карте отображена плотность населения по регионам, которая была подсчитана на основе данных о численности населения за 2022 год взятых с сайта Федеральной службы государственной статистики [5]. Карта с расположением объектов накопленного вреда представлена на рисунке 1.

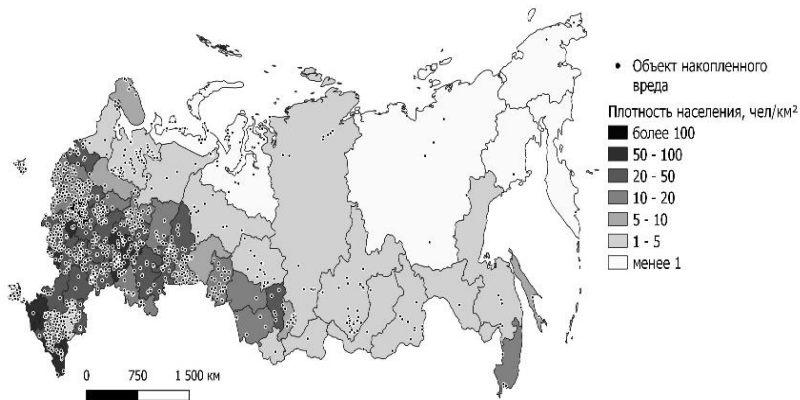


Рис. 1. Карта расположения объектов накопленного вреда на территории Российской Федерации

Было установлено, что основная масса объектов находится в западной части России, с самой высокой плотностью населения. Всего здесь расположено 1552 объекта накопленного вреда. Из них 1316 приходится на несанкционированные свалки и полигоны ТКО, а остальные 236 объектов представляют собой разного рода промышленные предприятия и территории бывших обогатительных комбинатов. Значительное скопление объектов накопленного вреда наблюдается в Ставропольском крае (262 объекта), Кабардино-Балкарской Республике (72 объекта) и Республике Крым (134 объекта). Данные регионы обладают высокой плотностью населения, которое потенциально может быть подвержено негативному воздействию накопленного вреда. Основными видами объектов в этих регионах являются несанкционированные свалки и полигоны ТКО.

На востоке страны, в Сибирском и Дальневосточном округах, плотность населения достаточно низкая. Всего на этих территориях насчитывается 201 объект накопленного вреда, что практически в 8 раз меньше, чем на западе России. На свалки и полигоны ТКО из этого количества приходится 111 объектов, а остальные 90 представляют собой территории промышленных предприятий, склады с различными загрязняющими веществами и хвостохранилища.

Библиографический список

1. Алыкова О.И., Чуйкова Л.Ю., Чуйков Ю.С. Накопленный экологический вред: проблемы и последствия. Сообщение 1. Государственный реестр ОНВОС // Астраханский вестник экологического образования. 2021. Т. 62, № 2. С. 88–113
2. Алыкова О.И., Чуйкова Л.Ю., Чуйков Ю.С. Накопленный экологический вред: проблемы и последствия. Сообщение 2. Анализ ситуации // Астраханский вестник экологического образования. 2021. Т. 62, № 2. С. 114–137.
3. Гафаров Н.Р. Правовой порядок выявления и оценки негативного воздействия от объектов накопленного вреда окружающей среде // Аграрное и земельное право. 2020. Т. 188, №8. С. 58–60
4. Соловьянов А. А., Чернин С. Я. Ликвидация накопленного вреда окружающей среде в Российской Федерации. М.: Наука РАН, 2017. 456 с.
5. Численность населения Российской Федерации по муниципальным образованиями // Федеральная служба государственной статистики: сайт. URL: <https://rosstat.gov.ru/compendium/document/13282> (дата обращения: 26.03.2023)

Проблема микробной безопасности пищевой продукции животного происхождения на потребительском рынке Российской Федерации

М.Ю. Мазунина

ПГНИУ

Научный руководитель – д.м.н. **О.Ю. Устинова**,
ФБУН ФНЦ Медико-профилактических технологий
управления рисками здоровью населения

Аннотация. Большое количество заболеваний человека, определяющие его здоровье и способность к выполнению общественно-социальных функций связаны с употреблением в пищу некачественной продукции животного происхождения, т.к. именно эта пища является источником многих необходимых для жизни питательных веществ. В ходе исследования уровня безопасности продукции животного происхождения были проанализированы данные по качеству пищевой продукции ряда категорий с выявлением частоты нарушений в ней санитарно-гигиени-

ческих требований. Данные послужат для обсуждения более эффективной организации риск-ориентированного надзора за товарами на потребительском рынке Российской Федерации.

Ключевые слова: пищевая продукция, безопасность.

Контроль безопасности и качества пищевых продуктов – важнейшая составляющая надзора за потребительским рынком страны [1]. Через пищевые продукты животного происхождения передаются возбудители многих заболеваний, в том числе сальмонеллеза, эшерихиоза, бруцеллеза, туберкулеза, сибирской язвы, псевдотуберкулеза, туляремии, микозов, стафилококковых инфекций и других болезней [2,3]. Возбудители многих пищевых инфекций имеют широкое распространение в природе, способны длительный срок сохраняться в окружающей среде и оставаться факультативными паразитами для теплокровных, в том числе продуктивных животных [4]. Основным источником заражения людей возбудителями пищевых инфекций являются сырье и продукты питания животного происхождения, и прежде всего выработанные с нарушением гигиены и технологических режимов на различных участках производственных процессов. [5,6]. С целью установления безопасности пищевой продукции, обращаемой на потребительском рынке, проводится выборочный отбор и лабораторный анализ проб пищевой продукции.

В ходе исследования были проанализированы материалы формы № 18 статистической отчетности Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека «Сведения о санитарном состоянии субъекта Российской Федерации» (Раздел 8. Гигиеническая характеристика продовольственного сырья и пищевых продуктов) за 2015–2021 гг. Рассматривали результаты как в разрезе Российской Федерации, так и в разрезе отдельных регионов. Всего рассмотрено 1786 отчетных форм, содержащих данные о нарушении санитарно-эпидемиологических требований к микробному загрязнению 20 видов пищевой продукции животного происхождения отечественного и зарубежного производства. Проводился анализ нарушений санитарно-эпидемиологических требований к паразитологическим и микробиологическим показателям, в том числе с выделением патогенных возбудителей сальмонелл, среди данной продукции.

Установлено, что ежегодно, на территории Российской Федерации органами и организациями Роспотребнадзора отбирается и исследуется порядка 2 млн проб отечественной и импортной пищевой продукции. В целом за период 2015–2021 гг. произошло снижение доли проб пищевой продукции, не соответствующей санитарно-эпидемиологическим

требованиям и по микробиологическим (с 4,75 % в 2015 г. до 3,26 % в 2021 г.) показателям.

Однако, для ряда групп товаров эта доля продолжает оставаться высокой. По итогам 2021 года к приоритетным группам продукции по микробиологическим показателям, доли проб по которым превышали среднероссийский уровень удельного веса проб в отечественной (в 3,26 %) продукции относятся: «кулинарные изделия» – 3,47 %, за счет кулинарных изделий, выработанных по нетрадиционной технологии (6,99%) и кулинарных изделий цехов и предприятий общественного питания, реализующих свою продукцию через торговую сеть (4,45 %).

В основном к этой группе относится продукция паназиатской кухни (роллы, суши, сашими) – товары с коротким сроком безопасного хранения и требующие высокой степени соблюдения гигиенических требований при приготовлении, транспортировке и хранении.

Следует отметить, что порядка 4-5 проб из 100 не соответствовали требованиям микробиологической безопасности продукты из группы «рыба, нерыбные объекты промысла и продукты, вырабатываемые из них» – 4,7 %; «птица, яйца и продукты их переработки» – 3,92 %; «мясо и мясные продукты» – 3,8 %.

Следует отметить, что в части обеспечения микробиологической безопасности регионы существенно различаются между собой. Так, выявлено, что наибольшая частота проб с нарушениями норм по паразитологическим показателям среди рыбной продукции по сумме ежегодно выявляется в республика Саха (Якутия), что коррелирует с повышенной частотой случаев заболеваний описторхозом и дифиллоботриозом на данной территории.

По микробиологическим показателям наибольшее количество нарушений отмечается в северо-западном федеральном округе – в республике Коми, для рыбных консервов в Белгородской области. Полученные данные являются информационной основой для организации риск-ориентированного контроля за продукцией.

В целом, продукция животного происхождения, обращаемая по потребительском рынке Российской Федерации, за последние 10 лет характеризуется частотой нарушений обязательных требований к микробиологической безопасности на уровне 3-5%.

Регионы существенно различаются между собой по части обеспечения микробиологической безопасности, что требует обоснования региональных риск-ориентированных реестров пищевой продукции, учитывающих специфику истории проверок на конкретной территории, особенности потребления продукции и частоту вероятных ответов со стороны здоровья населения.

Библиографический список

1. Белякова З.Ю. Качество и безопасность органической пищевой продукции животного происхождения, Саратов, 2019.
2. ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии РФ». Питание – важнейший фактор, влияющий на здоровье человека, М. 2021.
3. Федеральный закон о качестве и безопасности пищевых продуктов N29-ФЗ, под ред. от 2022 г. М.: 2022.
4. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. О контроле за пищевой продукцией, находящейся в обороте и ввозимой на территорию Российской Федерации, М.: 2021.
5. Федеральный закон об учете животных и продукции животного происхождения, и внесении изменений в некоторые законодательные акты Российской Федерации", М.:2018.
6. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Государственный доклад о состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 году. М.: 2021.

Анализ обеспечения экологической безопасности литейного производства машиностроительного комплекса по направлению водоотведения

Д.В. Мальцева

ПГНИУ

Научный руководитель – д.м.н., доцент *Д.В. Ланин*,
ПГНИУ, ФНЦ МПТ УРЗН

Аннотация. Литейное производство отличается разнообразием загрязнений и объемом отходов, поэтому практически все виды сточных вод содержат высокие концентрации примесей. Были выявлены превышения по следующим показателям: химическое потребление кислорода (ХПК), биохимическое потребление кислорода полное (БПК полное), биохимическое потребление кислорода за 5 суток (БПК₅), взвешенные вещества, ХПК/БПК₅, цинк (Zn), никель (Ni), железо (Fe), ионы аммония (NH₄⁺), водородный показатель (рН).

Ключевые слова: литейное производство, сточные воды, превышение концентраций химических веществ.

Актуальность обусловлена: необходимостью понижения антропогенного воздействия тяжелых металлов, содержащихся в сточных водах, на водные объекты и окружающую среду; повышением качества и

эффективности очистки сточных вод. Накопление этих веществ представляет опасность для здоровья человека — аллергические реакции, отравления и другие заболевания [1]. Кроме того, могут оказывать неблагоприятное влияние на окружающую среду, включая загрязнение водных и почвенных ресурсов [2].

Цель — анализ химического состава сточных вод и выделение с превышением концентрации химических веществ разных классов опасности.

Первый этап исследования состоял из сбора и обработки данных, ранее проведенных анализов и структуризация исследований по результатам контрольных проб сточной воды независимыми лабораториями за 7 лет (2016-2022 гг.). Второй этап включал в себя выявление показателей, по которым присутствуют превышения и их динамика по колодцам (КК1-1017, КК-975, КК-976, КК-978, КК-985, КК-986, КК-987, КК-1051, КК-1053, КК-1054). На третьем этапе, исходя из выявленных превышений, были даны практические рекомендации по технологии очистки сточных вод основанные на данных литературы.

На производстве рассматривалась работа литейного цеха. Он снабжает механические цеха предприятия литыми заготовками и является первоосновой производства. Объект исследования: сточные воды литейного производства. Предмет исследования: химический состав сточных вод.

Согласно [3], было определено, по каким показателям присутствуют превышения. Основными видами примесей образующихся сточных вод являются: ХПК, БПК полное, БПК₅, взвешенные вещества — 1 класс опасности; ХПК/ БПК₅ — 2 класс опасности; Zn, Ni, Fe, NH₄⁺ — 4 класс опасности; pH — не относится к классу опасности.

Колодец КК1-1017 является наиболее исследуемым. Хотя количество превышений по анализируемым показателям в этом колодце сокращается с годами, данный колодец все еще имеет наибольшее количество превышений по таким показателям, как Fe — превышения в 5 раз, в 2 раза и менее; NH₄⁺ — превышения в 25 и 6 раз, в 2 раза и менее; Zn — превышения в 3 раза и менее; взвешенные вещества — превышения в 11 раз и менее; pH — незначительные превышения в 1,089 и менее раз; ХПК — превышения в 6 раз, в 1,3 раза; Ni — превышение в 1,7 раз.

Установлено, что в колодце КК-975 в 2020 году выявлено превышение нормы содержания взвешенных веществ в воде в 1,5 раза.

В 2020 году в колодце КК-985 по водородному показателю значение ниже нормы (результат 5,6, а ПДК 6-9 ед. pH). Зафиксировано повышенное содержание взвешенных веществ (превышения в 16, 3 и 1,4 раза); Fe — превышение в менее 1 раз; ХПК — превышения в 2 раза и менее; БПК₅ — превышения в 3,8 раз и менее; БПК полное — превышения в 5,5 раз и менее.

В 2020 году в колодце КК-986 по водородному показателю значение ниже нормы (результат 5,6, а ПДК 6-9 ед. рН). Наблюдается превышение следующих веществ: Fe – почти в 2 раза; превышение взвешенных веществ в 5,5 раз; ХПК/ БПК₅ – превышение в менее 1 раз; превышение ХПК в 4 раза; превышение в 2,8 раз БПК полное.

В колодце КК-987 наблюдается повышенное содержание веществ: превышение почти в 2 раза и менее ХПК; превышение в 1,5 раза БПК полное; превышение в 1,3 раза БПК₅; превышение в 1,7 раз ХПК/БПК₅.

В колодцах КК-1051, КК-1054, КК-976 показатели находятся в пределах нормы.

В соответствии с перечнем нормативных требований, предъявляемых к качеству сточной воды, существующая на предприятии очистка не удовлетворяет оптимальным условиям ее применения, так как не обеспечивается освобождение воды от загрязняющих веществ до нормативных значений [4].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что для эффективной очистки сточных вод от различных загрязнителей необходимо использовать комплексный подход, который включает в себя применение различных современных технологий и методов [5].

Даны практические рекомендации на основании работы с учетом выявления основных загрязняющих факторов:

1. Метод озонирования может быть использован вместе с методом адсорбции для удаления из воды как органических, так и неорганических соединений, таких как цинк (Zn) и никель (Ni);

2. Для эффективной очистки сточных вод от взвешенных веществ необходимо использовать комплексный подход, который включает в себя несколько этапов (процеживание, отстаивание, преаэрация, перебивание, коагуляция и флокуляция, сорбция, фильтрация);

3. Для снижения щелочности (рН) используются два метода: химический метод и с помощью ионного обмена, кроме того, также используют метод коагуляции;

4. Для обезжелезивания (Fe) воды, если концентрация железа в воде высокая, то действенным методом будут фильтры с каталитической загрузки и озонирование;

5. Для устранения ионов аммония (NH₄⁺) применим метод фильтрации безнапорной аэрацией и сорбентами.

Библиографический список

1. Роспотребнадзор. [Сайт]. URL: <https://05.rospotrebнадзор.ru/> (дата обращения: 10.06.2022).

2. Волкова Г.А., Сторожук Н.Ю. Методы очистки сточных вод, содержащих синтетические поверхностно-активные вещества // Вестник

Брестского государственного технического университета №2 (74). 2012. 36-39 С.

3. Постановление об утверждении правил осуществления контроля состава и свойств сточных вод от 22.05.2020 №728. Москва, 2020. URL: <https://docs.cntd.ru/document/499036854> (дата обращения: 17.02.2022).

4. Постановление об утверждении правил холодного водоснабжения и водоотведения от 29.07.2013 №644. URL: <https://docs.cntd.ru/document/499036854> (дата обращения: 17.02.2022).

5. Руководство по обеспечению качества питьевой воды // ВОЗ. Изд. 4-е, Женева, 2017. 628 с.

(p)ppGpp-синтетазы как факторы персистенции *Mycobacterium smegmatis*

Е.И. Маркелова^{1,2}, *Р.Ю. Сидоров*^{1,2}, *Н.М. Кашеварова*², *Е.Г. Чижова*²

¹ПГНИУ

²ИЭГМ ПФИЦ УрО РАН

Научный руководитель – доктор мед. наук, проф. *А.Г. Ткаченко*, ИЭГМ ПФИЦ УрО РАН, ПГНИУ

Аннотация. Персистенция бактерий является причиной неэффективности лечения туберкулеза антибиотиками [1]. В качестве соединения, способного подавлять персистенцию *Mycobacterium smegmatis*, был обнаружен DMNP – синтетическое производное эрогоргиаена. Используя два экспериментальных подхода – нокаут-мутации генов *ΔrelMsm* и *ΔrelZ* в сравнении со сверхэкспрессией *relMsm* и *relZ* – было показано, что обе (p)ppGpp-синтетазы RelMsm и RelZ являются возможными кандидатами на роль мишеней для DMNP.

Ключевые слова: персистенция, (p)ppGpp, антибиотики.

На формирование персисторных клеток влияет концентрация сигнальных молекул, одними из которых являются алармоны гуанозинтетрафосфат и гуанозинпентафосфат ((p)ppGpp). Они образуются за счет переноса пирофосфатной группы от АТФ на 3' углерод гуанозин 5'-трифосфата (ГТФ) или гуанозин 5'-дифосфата (ГДФ) [2]. Это основные молекулы стринджен-ответа, которые также являются ключевыми сигнальными молекулами стресса у бактерий и, кроме того, способствуют формированию персисторов [3]. У непатогенной бактерии *M. smegmatis*,

которая часто используется как модельный организм при изучении микобактерий, (p)ppGpp-синтетазами являются белки RelMsm и RelZ [4].

Клинические антибиотики действуют на активно растущие клетки в экспоненциальной фазе, теряя активность в стационарной, в то время как DMNP, наоборот, активен в стационарной фазе культуры, где много персистерных клеток. Выявлено, что снижение числа персистерных клеток после воздействия DMNP пропорционально количеству нокаутных мутаций. Наибольшее снижение наблюдалось при 12 часах культивирования при переходе из экспоненциальной фазы в стационарную (рис.1). Но даже у штамма с делециями генов (p)ppGpp-синтетаз присутствовал остаточный персистерный фенотип. Это даёт возможность предположить, о существовании дополнительной мишени DMNP у *M. smegmatis*, которой по данным литературы является полинуклеотидфосфорилаза (PNPase), кодируемая геном MSMEG_2656 [5].

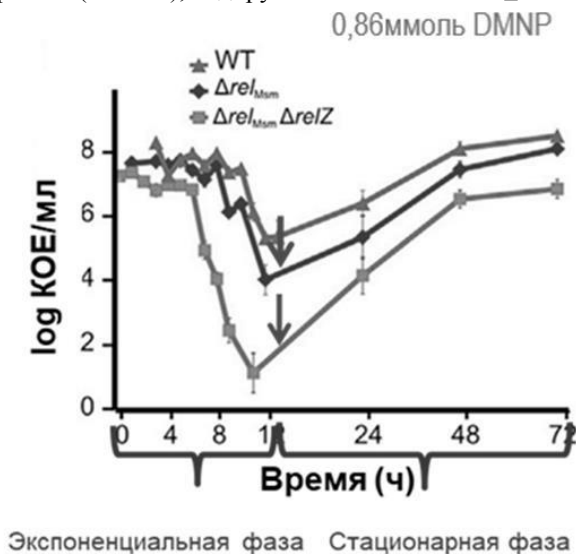


Рисунок 1. Влияние DMNP на штаммы, нокаутные по *relMsm* и *relZ*

Штамм с контролируемой экспрессией гена *relMsm* имел повышенную выживаемость при культивировании с DMNP в присутствии индуктора по сравнению со штаммом, культивируемого без индуктора. Повышенная концентрация молекул RelMsm способствовала большей выживаемости клеток. Аналогичная ситуация наблюдалась с геном *relZ*. Эксперимент подтверждает, что белки RelMsm и RelZ являются мишенью DMNP.

Исходя из возможности применения DMNP как потенциального антибиотика, мы решили оценить его действие на клетки *M. smegmatis* в условиях макроорганизма. Для этого в качестве экспериментальной модели использовали лабораторных мышей.

Клетки *M. smegmatis*, выращенные в колбе до экспоненциальной фазы, вводили в организм мыши, выдерживали в течение суток, где бактерии подвергались воздействию иммунных факторов. В качестве контроля использовалась мышь с введенным пептоном для стимулирования иммунного ответа, в качестве опытной – мышь с пептоном и DMNP. По истечении суток клетки выделяли из перитонеального смыва, селезенки и печени, стрессировали со стандартными антибиотиками: тетрациклином, стрептомицином, рифампицином в различных концентрациях. Наиболее выраженный эффект наблюдался в селезенке при действии стрептомицина. Представлены результаты одного из типичных экспериментов (рис.2).

Клетки, выращенные в питательной среде до экспоненциальной фазы, имели высокую чувствительность к стандартным антибиотикам, наиболее эффективным из которых оказался стрептомицин.

Под действием иммунных факторов мыши, стимулированных пептоном, клетки перешли в состояние персистерных, их выживаемость в присутствии стандартных антибиотиков увеличилась.

Но при введении DMNP и пептона в организм мыши, после воздействия на клетки стандартных антибиотиков, количество персистеров снижалось по сравнению с контролем.

DMNP выступил в качестве главного соединения, нацеленного на образование клеток-персистеров микобактерий. Эксперименты продемонстрировали, что мишенями DMNP являются (p)ppGpp-синтазы RelMsm и RelZ. Кроме того, было показано снижение выживаемости *M. smegmatis* в присутствии DMNP в условиях макроорганизма. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых методов лечения туберкулёза.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (АААА-А19-119112290009-1).

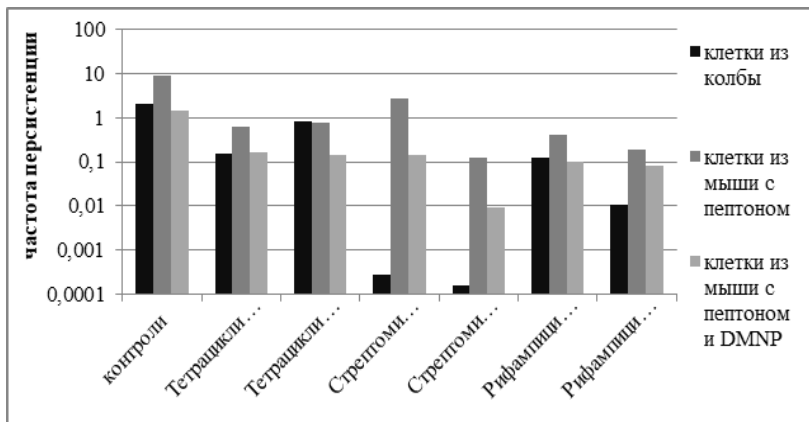


Рисунок 2. Выживаемость *M. smegmatis* из селезенки после стрессирования антибиотиками

Библиографический список

1. Lewis K. Persister cells//Annu. Rev. Microbiol. – 2010. – р. 357-372.
2. Haurlyuk, V. Recent functional insights into the role of (p)ppGpp in bacterial physiology // Nature Reviews Microbiology. – 2015.
3. Ткаченко А.Г. Молекулярные механизмы стрессорных ответов у микроорганизмов / Екатеринбург: УрО РАН. – 2012.
4. Petchiappan A., Naik S. Y., Chatterji D. RelZ-mediated stress response in *Mycobacterium smegmatis*: pGpp synthesis and its regulation // American Society for Microbiology. – 2019. Vol.10. P.50-93.
5. Briani, F., Carzaniga, T. Regulation and functions of bacterial PNPase/ Advanced Review. – 2016. –Vol.7. – P. 241 – 251.

Синтез биосурфактантов родококками при использовании отработанного растительного масла

М.А. Мясникова¹, М.С. Куюкина^{1,2}

¹ ПГНИУ

² ИЭГМ УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН

Аннотация. С целью увеличения выхода биосурфактантов изучена возможность культивирования актинобактерий рода *Rhodococcus* использованием отработанного растительного масла в качестве углеродного субстрата.

Ключевые слова: биосурфактанты, *Rhodococcus*, отработанное масло

Биосурфактанты все шире востребованы в промышленности и быту, поэтому идет интенсивный поиск альтернативных возобновляемых источников сырья (взамен нефтяных углеводородов) для их микробиологического синтеза [1, 2]. С этой целью перспективно использовать масло- и жиросодержащие отходы, например, отработанное растительное масло [3], однако для родококков данная возможность изучена недостаточно.

В работе использовали штамм *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ; WFCC/WDCM #768; www.iegmc.ru). Культивирование бактерий осуществляли в жидкой минеральной среде RS [4] с добавлением 2,0; 3,0 или 5,0 об.% отработанного растительного масла, в колбах Эрленмейера объемом 250 мл при постоянном перемешивании, 28°C, в течение 5 сут. В качестве модельного углеродного субстрата использовали *n*-гексадекан (C₁₆) в концентрации 3 об.%. Рост бактерий оценивали по высоте гидрофобного эмульсионного слоя культуры. Биосурфактанты экстрагировали из культуры метил-трет-бутиловым эфиром по ранее разработанной методике [5]. Качественный состав выделенных биосурфактантов определяли с помощью ТСХ.

По нашим данным (рис. 1), интенсивность бактериального роста на отработанном растительном масле 1,8 раз превышала такую же при использовании модельного субстрата – *n*-гексадекана в равной (3,0 об.%) концентрации. При этом рост культуры *R. ruber* ИЭГМ 231 был прямо пропорционален концентрации использованного масла.

Количество синтезируемых родококками биосурфактантов также напрямую зависело от концентрации отработанного масла (рис. 2), что подтверждает рост-зависимый характер их биосинтеза на гидрофобных субстратах [1]. Так, из культуры, выращенной при максимальной (5,0 об.%) концентрации масла, было экстрагировано наибольшее (42,5 г/л) количество биосурфактантов. В то же время, при минимальной (2,0 об.%) концентрации углеродного субстрата выход биосурфактантов составлял всего 18,0 г/л. Таким образом, степень конверсии отработанного масла в биотехнологически ценный продукт – биосурфактант составила 89,5-97,4%.

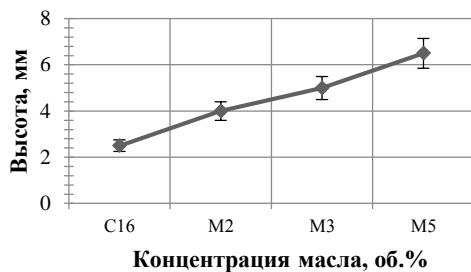


Рис. 1. Сравнение высоты слоя культуры *R.ruber* ИЭГМ 231, выращенной на разных источниках углерода: C16 – *n*-гексадекан; M2, M3 и M5 – отработанное масло в концентрации 2, 3 и 5 об.% соответственно.

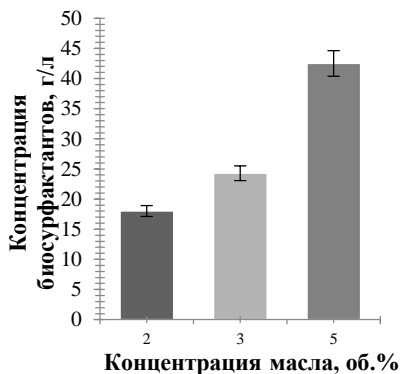


Рис. 2. Синтез биосурфактантов клетками *R. ruber* ИЭГМ 231 в зависимости от концентрации отработанного растительного масла.

Анализ качественного состава выделенных биосурфактантов выявил присутствие в них гликолипидов (рис. 3Б), отсутствующих в исходном субстрате (отработанном растительном масле). Также было показано уменьшение по сравнению с исходным маслом содержания ацилглицеридов (рис. 3А), особенно моно- и триацилированных компонентов.

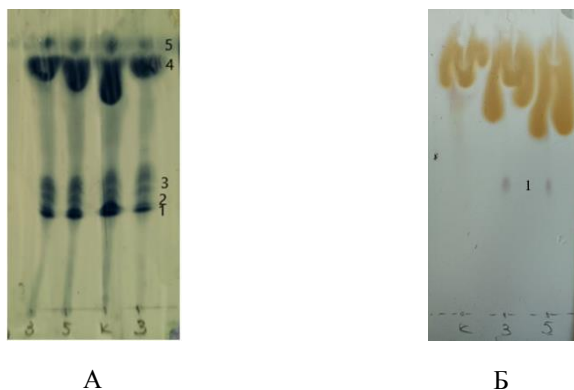


Рис.3. Разделение липидов методом тонкослойной хроматографии. Варианты опыта: К – масло; 3 и 5 – биосурфактант с масла 3,0 об.% и 5,0 об.% соответственно; А: 1 – моноацилглицериды; 2 – диацилглицериды; 3 – жирные кислоты; 4 – триацилглицериды; 5 – углеводы; Б: 1-гликолипиды.

Полученные данные свидетельствуют об осуществлении родококками процесса биотрансформации липидных компонентов растительного масла (в частности ацилглицеридов) в гликолипиды – наиболее эффективные биосурфактанты микробного происхождения [1]. Проблемой исследования является определение количества неассимилированного клетками масла. Дальнейшая работа будет направлена на оптимизацию среды культивирования родококков с целью повышения выхода гликолипидных биосурфактантов. Результаты исследования могут использоваться при разработке биотехнологий получения поверхностно-активных веществ на альтернативных источниках сырья – маслосодержащих пищевых отходах.

Работа выполнена в рамках государственного задания ПФИЦ УрО РАН, номер госрегистрации темы: 122010800029-1.

Библиографический список

1. Kuyukina M.S., Ivshina I.B. Production of trehalolipidbiosurfactants by *Rhodococcus* // In: Biology of *Rhodococcus*. Microbiology Monographs / Ed. A. Steinbüchel. Springer Nature, 2019. V. 16. P. 271-298.
2. Helmy Q., Kardena E., Funamizu N., Wisjnuprpto. Strategies toward commercial scale of biosurfactant production as potential substitute for itschemically counterparts // Int. J. Biotechnology. 2011. V. 12. P. 66–86.
3. Sanches M.A. et al. Production of biosurfactants by ascomycetes // Int. J. Microbiology. 2021. V. 2021. Article 6669263.
4. Catalogue of strains of Regional Specialized Collection of Alkanotrophic Microorganisms[www.iegm.ru/iegmcol]. Доступ: 10.05.2023.
5. Kuyukina M.S. et al. Recovery of *Rhodococcus* biosurfactants using methyl-tertiary butyl ether extraction // J. Microbiol. Methods. 2001. V. 46. P. 149-156

Иммунотоксические эффекты продуктов микробной деградации отдельных производных бифенилов

Е.С. Наговицина, С.В. Гейн, Д.О. Егорова
ПГНИУ

Аннотация. Установлено, что бифенил и его хлорпроизводные оказывают угнетающее влияние на гуморальный иммунитет, снижая количество антителообразующих клеток в селезенке. После деградации исследуемых соединений с помощью штамма *Rhodococcus ruber* P25, их метаболиты сохраняли иммуносупрессорные свойства и, также как исходные соединения, приводили к снижению образования антителообразующих клеток и, соответственно, подавлению гуморального звена иммунитета.

Ключевые слова: бифенил, иммунный ответ, гиперчувствительность замедленного типа, антителообразующие клетки.

Бифенил и его производные входят в группу стойких органических загрязнителей, представляющих угрозу для здоровья человека. Данная группа органических соединений, а также их производные, оказывают негативное влияние на функции различных органов и тканей (печень, почки, нервная система, кожа), а также обладают доказанным канцерогенным эффектом [1] и влияют на внутриутробное развитие [2]. В настоящей работе мы оценивали иммунотоксический эффект данной группы веществ, а также влияние микробной обработки штаммом *Rhodococcus ruber* P25 на их иммунобиологические свойства.

Объектом исследования в системе *in vivo* послужили белые мыши породы Swiss массой 18–23 г. Животные содержались в условиях лабораторного вивария, при естественном освещении, неограниченном доступе к воде и кормам. Деградацию бифенила и его производных осуществляли с использованием штамма *Rhodococcus ruber* P25 в течении 7 дней [3].

Мыши были разделены на следующие группы: 1-я – контрольная, 2-я – введение ПХБ 12, 3-я – введение бифенила. Введение производилось перорально, в дозировке 100 мг/кг, через день, на протяжении 24 суток. На 19-ый день, для оценки интенсивности антителогенеза, мыши были иммунизированны эритроцитами барана в брюшную полость, в концентрации 10^8 в 200 мкл. На 25-ый день мышей выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. Интенсивность антителогенеза проверялась в геле агарозы по *Jerne N. K.* [4]. Статистический анализ проводился с помощью непарного t-критерия Стьюдента [5].

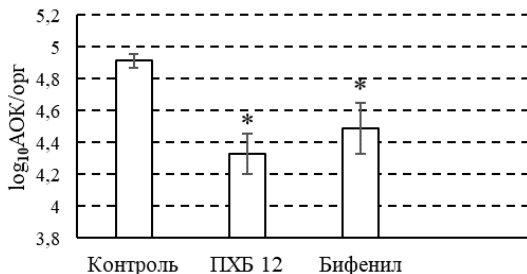


Рис. 1. Влияние бифенила и ПХБ 12 (3,4 дихлорбифенила) на абсолютное количество антителообразующих клеток в селезенке. Здесь и далее: * - $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

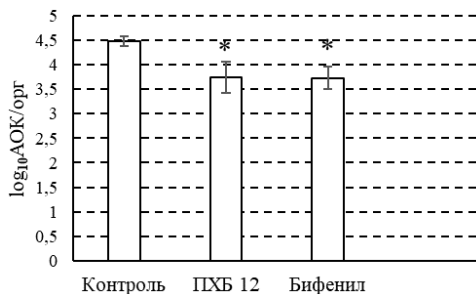


Рис. 2. Влияние продуктов биодеградации бифенила и ПХБ 12 (3,4-дихлорбифенила) на абсолютное количество антителообразующих клеток в селезенке

Установлено, что бифенил и ПХБ 12 (дихлорированный бифенил) угнетают гуморальный иммунитет по абсолютным показателям. Количество антителообразующих клеток у мышей экспериментальных групп было статистически значимо значительно ниже контрольной группы. При исследовании иммунотоксических эффектов бифенила и его производных после микробной обработки было установлено, что полученные метаболиты также не потеряли своих токсичных свойств в отношении клеток иммунной системы. Продукты деградации ПХБ 12 и бифенила оказывали аналогичный негативный эффект, статистически значимо угнетая образование АОК в селезенке.

Библиографический список

1. Гумовская Ю.П. Стойкие органические загрязняющие вещества (СОЗ) в организме человека: опыт России и бывших советских республик / Ю.П. Гумовская // Стойкие органические загрязняющие вещества (СОЗ) в Дальневосточном регионе: моря, организмы, человек / В.Ю. Цыганков, А.Н. Гумовский, В.Ю. Цыганков, А.В. Полевщиков. – Владивосток: Дальневосточный федеральный университет, 2020. – Гл.12. – С. 283-316. – ISBN 978-5-7444-4891-2
2. Toxic effects of polychlorinated biphenyl congeners and aroclors on embryonic growth and development / C. Singleman, A. Zimmerman, E. Harrison [и др.] // *Environmental toxicology and chemistry*. – 2021. – Т. 40, № 1. – С. 187-201.
3. Егорова Д.О. Аэробные бактерии-деструкторы полихлорированных бифенилов: филогенетическое и функциональное разнообразие, биотехнологический потенциал: дис. / докт. биол. наук: 03.02.03. – Пермь, 2022. – 358 с.
4. Jerne N.K., Nordin A.A. // *Science*. 1963. V. 140, N. 3365. P. 405–405
5. Гланц С. Медико-биологическая статистика / пер. с англ. М.: Практика, 1998. 459 с

Разработка праймеров и ПЦР-протокола для молекулярной диагностики факторов тяжелого течения пульмонологических вирусных заболеваний

Е.С. Паинова¹, А.Ю. Максимов^{1,2}

¹ПГНИУ,

²ИЭГМ УрО РАН

Аннотация. Проведены дизайн праймеров и разработка протокола ПЦР-реакций для детекции однонуклеотидных полиморфизмов генов *ABO*, *ACE2*, *AHSG*, *CYP4F3A*, *IFNAR2*, *PAHTEC*, *SFTPA1*, *TYK2*, ассоциированных с факторами тяжелого течения пульмонологических вирусных заболеваний.

Ключевые слова: ПЦР-диагностика, COVID-19, SNP

Проблема тяжелого течения пульмонологических вирусных заболеваний приобретает особую актуальность в современном мире, на фоне изменения и появления новых коронавирусных инфекций, вызванных вирусами тяжелого острого респираторного синдрома SARS-Cov, ближневосточного респираторного синдрома MERS-Cov, и в особенности COVID-19 – SARS-CoV-2, который затронул все население Земли, став глобальной угрозой для человечества [2,4].

COVID-19 проявляется самым различным образом: от бессимптомного течения заболевания до множественных тромбозов и тяжелых стадий с острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС), полиорганным поражением и смертью. Коронавирусная инфекция в первую очередь нацелена на поражение дыхательных путей. На тяжесть протекания COVID-19, влияют самые разнообразные факторы риска.

Основные факторы риска включают в себя: мужской пол, пожилой возраст, повышенный ИМТ, метаболический синдром и другие сопутствующие заболевания [5].

При определении риска тяжелого течения коронавирусной атипичной пневмонии, особое внимание следует уделять диагностике генетических факторов предрасположенности, которые уже в значительной степени исследованы. В числе важных факторов тяжелого течения COVID-19 известны аллельные варианты генов *ACE2* (кодирующего рецептор, являющийся мишенью вируса SARS-CoV2), *TMPRSS2* (кодирующего трансмембранную сериновую протеазу, используемую вирусом как активатор S-белка шипа SARS-CoV-2), аллелей и сопряженных генетических локусов, влияющих на уровень экспрессии генов *ACE2* и

ACE, а также ряда генов, которые ассоциированы с противовирусным иммунитетом, с системами антиоксидантной защиты клеток, свертывания крови, с риском тромбозов, с предрасположенностью к сахарному диабету, и т.д. [1,3]. Генетические факторы риска тяжелого течения вирусной атипичной пневмонии уже в значительной степени описаны. Ряд из таких факторов, ассоциированных с тяжестью протекания COVID-19, ранее ассоциированы с тяжелым течением SARS и MERS. Однако коммерчески доступных молекулярных диагностических систем к ним существует очень мало.

Цель настоящего исследования – разработка праймеров и режимов реакции для ПЦР-диагностической системы определения однонуклеотидных полиморфизмов ряда генов, определяющих риск тяжелого течения коронавирусной атипичной пневмонии.

С помощью онлайн-сервисов проводили поиск однонуклеотидных ряда полиморфизмов (SNP), сопряженных с высоким риском тяжелого течения COVID-19, ассоциированных с генами *ABO*, *ACE2*, *AHSG*, *CYP4F3A*, *IFNAR2*, *PAHTEC*, *SFTPA1*, *TYK2* в банке аннотированных нуклеотидных последовательностей GenBank Национального Центра Биотехнологической Информации США (NCBI GenBank). Варианты однонуклеотидных замен и их характеристики, аллельные формы устанавливали по базе данных SNP (NCBI SNP).

Из содержащих соответствующий ген последовательностей выбирали участки, предшествующие детектируемым полиморфизмам и последующие за ними, длиной до 30 п.н. Последовательности и прогнозируемые термодинамические свойства соответствующих олигонуклеотидов анализировали в программном пакете VectorNTI 11.5. Парные праймеры подбирали таким образом, чтобы длина амплифицируемой последовательности составляла 300 пн.

Сконструированы пары праймеров для ПЦР-анализа выбранных полиморфизмов, позволяющие различать мутантные и нормальные аллели исследуемых генов, таким образом, чтобы анализируемые точечные мутации соответствовали 3'-концу одного из праймеров и обеспечивали дискриминационный отбор мутантного либо нормального аллеля при ПЦР. Длина праймеров выбрана таким образом, чтобы расчетная температура плавления праймеров входила в диапазон соответствовала 60-63°C. Теоретическую специфичность праймеров и отсутствие неспецифических мишеней проверяли методом BLAST-анализа с использованием сервиса nucleotide BLAST (NCBI BLAST). Оптимизацию температуры отжига праймеров проводили при модельной постановке ПЦР-реакции в режиме температурного градиента (таблица 1).

Таблица 1

Последовательности праймеров и ПЦР-фрагмента
на примере гена ACE2

Ген	Последовательность праймеров и ПЦР-фрагмента, 5'-3'	Т отжига, °С
ACE2	<p>F CCACAAGAATGCTTATTACTTGAACCAGGTAT R AGACATCAGGTCATAAAGTGGTTAAATAAAATCTC ПЦР ФРАГМЕНТ AGACATCAGGTCATAAAGTGGTTAAATAAAATCTCAT GATTCATTCATGTCSTTGCCSTTATAGTTCCAAAATAT GTCTGCAGAGAAAATAAACCACTGAAATGACTTACTT ACTGACTTGATCAAATTAAGTAAATGTGATACAATTT ACAAGAAAGTTTTACTAAAAGTTAAAAGAGACATCTAT GTGTTGAAACACACATATCTGCAATCATTTTTAAAT CTGAGAGAAAAGTAAATTTTCATAATCACTACTAAAAA TTAGTAGCCTACCTGGTTCAGTAATAAGCATTCTTGT GG</p>	61,0 60,8

В результате проведенных исследований разработаны праймеры и ПЦР-протоколы для обнаружения ряда ключевых факторов тяжелого течения вирусных пульмонологических заболеваний.

Библиографический список

1. Щербак С.Г., Камилова Т.А., Голота А.С., Вологжанин Д.А. Факторы риска тяжелого течения и летального исхода COVID-19 // Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. – 2022. – Т. 4. – №1. – С. 14-36.
2. Anastassopoulou C, Gkizarioti Z, Patrinos G.P, et al. Human genetic factors associated with susceptibility to SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease severity. // Hum Genomics 14. – 2020. – V.40(2020). – P. 40.
3. Gemmati D, Bramanti B, Serino ML, et al. COVID-19 and individual genetic susceptibility/receptivity: role of ACE1/ACE2 genes, immunity, inflammation and coagulation. Might the double X-chromosome in females be protective against SARS-CoV-2 compared to the single X-chromosome in males? // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – V.21(10). – P.3474.
4. Ishak A, Mehendale M, AlRawashdeh MM, et al. The association of COVID-19 severity and susceptibility and genetic risk factors: A systematic review of the literature. // Gene. – 2022. – V.836. – P. 146674.
5. Velavan T. P, Pallerla S.R, Rüter J, et. al. Host genetic factors determining COVID-19 susceptibility and severity. // EBioMedicine. – 2021. – V.72(2021). – P.103629.

Оптимизация процесса биодеструкции кетопрофена

М.А. Польшгалов^{1,2}, Е.А. Тюмина^{1,2}, И.Б. Ившина^{1,2}

¹ПГНИУ

²“ИЭГМ УрО РАН” – филиал ПФИЦ УрО РАН

Аннотация. Представители вида *Rhodococcus erythropolis* проявляют деградирующую активность в отношении кетопрофена. Установлено, что процесс биодеструкции кетопрофена протекает активнее у клеток в состоянии иммобилизации на поливиниловом спирте и в присутствии *n*-гексадекана. При этом наиболее выраженную биодеструктирующую способность клетки проявляют к кетопрофену в высокой концентрации (100 мг/л). Выявленная биодеструктирующая способность штамма *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 712 может быть использована для разработки эффективного биопрепарата для элиминации кетопрофена из загрязненных сред.

Ключевые слова: биодеструкция, кетопрофен, родококки

Кетопрофен – это бициклическое НПВС с колоссальным объемом производства, продажи и потребления в медицине и ветеринарии. Он принадлежит группе производных пропионовой кислоты с выраженными пролонгирующими противовоспалительным, обезболивающим и жаропонижающим эффектами [1]. Кетопрофен, как и все фармацевтические соединения, изначально разрабатывался для поддержания и сохранения здоровья человека и животных, однако в настоящее время он является серьезным препятствием на пути к достижению целей устойчивого развития и несёт реальную угрозу человечеству и окружающей среде в планетарном масштабе [2,3]. Кетопрофен относится к эмерджентным загрязнителям – соединениям, детектируемым в окружающей среде преимущественно в малых количествах (нг/л–мкг/л), но имеющих потенциальные негативные эффекты на флору и фауну [4,5]. При этом его периодическое поступление может привести к высоким постоянным концентрациям [6,7]. Поскольку микроорганизмам принадлежит роль системы “первичного реагирования” на ксенобиотическую нагрузку, особый интерес представляет изучение механизмов бактериальной деструкции, трансформации фармпрепаратов и оптимизация этих процессов. Однако работы по микробной конверсии кетопрофена пока очень немногочисленны и в основном проведены с использованием микроорганизмов активного ила и грибов [8].

Цель работы – оптимизировать и оценить основные параметры процесса биодegradации кетопрофена с использованием актиномицетов рода *Rhodococcus*.

Материалы и методы. В работе использовали 3 штамма актиномицетов из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WFCC 285, УНУ 73559, ЦКП 480868, www.iegmc01.ru). Для экспериментов по биодеструкции использовали жидкую минеральную среду RS и фосфатный буфер с добавлением раствора микроэлементов по Постгейту [9]. В качестве дополнительного источника углерода и энергии использовали ацетат натрия, глицерин, глюкозу или *n*-гексадекан в концентрации 0,1 об. %, а инокулята – клетки штамма *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 712, предварительно выращенные в течение трех сут в мясопептонном бульоне, *d* концентрации 10⁶ кл/мл. Эксперименты по биодеструкции кетопрофена проводили в условиях периодического культивирования (160 об/мин, 28°C) в колбах Эрленмейера вместимостью 250 мл с объемом среды 100 мл, содержащей 0,01% (100 мг/л) или 0,00001% (100 мкг/л) кетопрофена. В качестве абиотического контроля использовался стерильный раствор кетопрофена в минеральной среде RS. Содержание кетопрофена в среде культивирования актиномицетов определяли методом жидкостной хроматографии с использованием хроматографа LC Prominence 20A (Shimadzu, Япония), оборудованного хроматографической колонкой с обращенно-фазным сорбентом Discovery® C18, 25 cm × 4.6 mm, and 5µm (Supelco, США) и диодно-матричным детектором (SPD-M20A).

Результаты. Установлено, что представители вида *Rhodococcus erythropolis* проявляют деградирующую активность в отношении кетопрофена. Однако процесс биодеструкции кетопрофена как в больших (100 мг/л), так и малых 100 мкг/л концентрациях протекает медленно. Это объясняется сложностью состава препарата, в том числе наличием нескольких функциональных групп (метильная, кетонная, карбоксильная). Наилучшие результаты показал штамм *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 712: на 21 сутки эксперимента остаточное содержание фармвещества составляло 87 и 94% для большой и малой концентраций соответственно. При использовании иммобилизованных клеток установлено, что наибольшая убыль кетопрофена на 21 сутки наблюдалась у клеток, иммобилизованных в поливиниловом спирте, при этом остаточное содержание кетопрофена составляло 92%. Можно увидеть некую закономерность в том, что в большинстве образцов на начальных этапах концентрация кетопрофена уменьшается, а после 7 суток культивирования родококков начинает увеличиваться. По-видимому, в

начале биодеструкции фармполлютант сорбируется на носителе, а после 7 суток постепенно десорбируется в среду.

Заключение. Таким образом, штамм *Rhodococcus erythropolis* ИЭГМ 712 демонстрирует биодеструктирующую способность по отношению к кетопрофену, что делает его перспективным для разработки нового эффективного биопрепарата для элиминации кетопрофена из загрязненных сред.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-14-00132.

Библиографический список

1. Wang J. et al. Targeted eco-pharmacovigilance for ketoprofen in the environment: Need, strategy and challenge // *Chemosphere*. 2018. V. 194. С. 450–462.
2. Quincey D. J. et al. High concentrations of pharmaceuticals emerging as a threat to Himalayan water sustainability // *Environmental Science and Pollution Research*. 2022. V. 29. С. 16749–16757.
3. Wilkinson J. L. et al. Pharmaceutical pollution of the world's rivers // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2022. V. 119. e2113947119.
4. Hejna M. et al. Pharmaceuticals in the aquatic environment: A review on eco-toxicology and the remediation potential of algae // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022. V. 19. 7717.
5. Khan S. et al. Emerging contaminants of high concern for the environment: Current trends and future research // *Environmental Research*. 2022. V. 207. 112609.
6. Ramírez-Morales D. et al. Occurrence of pharmaceuticals, hazard assessment and ecotoxicological evaluation of wastewater treatment plants in Costa Rica // *Science of The Total Environment*. 2020. V. 746. 141200.
7. Ivshina I. et al. Cellular modifications of rhodococci exposed to separate and combined effects of pharmaceutical pollutants // *Microorganisms*. 2022. V. 10. 1101.
8. Guzik U., Wojcieszynska D. Biodegradation of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs and Their Influence on Soil Microorganisms // In: *Microbes and Enzymes in Soil Health and Bioremediation*. eds. A. Kumar, S. Sharma / Singapore: Springer, 2019. P. 379–401.
9. IEGM Regional Specialised Collection of Alkanotrophic Microorganisms // URL: <http://www.iegmcol.ru/strains/index.html> (дата обращения 05.05.2023).

Микробиом содового шламохранилища как источник штаммов для создания бактериальных препаратов

Е.В. Пьянкова

ПГНИУ

Научный руководитель – д.б.н, проф. Ю.Г. Максимова, ПГНИУ

Аннотация. Выделено 12 штаммов азотфиксирующих бактерий из образцов, отобранных на действующей и старой картах содового шламохранилища Березниковского содового завода. Изучены их физиолого-биохимические свойства, рассмотрено фитостимулирующее действие на рост томатов. Кроме того, приготовлен бактериальный препарат липазы, из ранее выделенного штамма *Pseudomonas peli* 3-Т. Изучена его термостабильность и рН-зависимость, а также влияние иммобилизации и высушивания на сохранение ферментативной активности.

Ключевые слова: азотфиксация, липаза, шламохранилище.

Активная промышленная деятельность человека приводит к техногенным загрязнениям окружающей среды. В результате прослеживается попадания различных экотоксикантов в грунты, накопление тяжелых металлов, различных химических соединений. Высокие концентрации загрязняющих веществ приводят

к деструкции почв и исчезновению растительного покрова. Одним из видов такого загрязнения являются шламонакопители твердых отходов и дистиллерной жидкости производства кальцинированной соды. На территории Пермского края в городе Березники находится крупнейший завод по производству кальцинированной соды. Негативное влияние производства заключается в отчуждении больших площадей под складирование отходов, имеющих высокую щелочность и минерализацию [1, 2, 3]. Грунт содового шламонакопителя является уникальной средой обитания для микроорганизмов экстремофилов, так как имеет щелочную реакцию среды и высокую соленость, поэтому является источником устойчивых микроорганизмов с полезными свойствами: азотфиксаторов, продуцентов гидролитических ферментов, фосфатмобилизующих бактерий.

Цель исследования – оценить биотехнологических потенциал и возможность создания бактериальных препаратов из выделенных экстремотолерантных бактерий (г. Березники, Пермский край).

Объектами исследования являются изоляты, выделенные из грунта содового завода, и ранее выделенный штамм *P. peli* 3-Т. Отбор проб грунта проводился в 4 точках на территориях действующей и старой карт шламонакопителя. Т.1 – действующий шламонакопитель, Т.2 – эксплуатация прекращена 10 лет назад (грунт содержит ризосферу), Т.3.8 и Т.3.9 – эксплуатация прекращена в 70-х гг. XX в (грунт с глубины 10-20 см и с поверхности соответственно).

Чистые культуры азотфиксирующих бактерий выделяли из образцов грунта содового шлалоохранилища на селективной агаризованной среде Эшби [4]. Культивирование *P. peli* 3-Т производили на среде Пфеннига [5]. Способность выделенных азотфиксирующих штаммов расти на безазотистой среде оценивали по изменению оптической плотности (ОП₅₄₀) культуральной жидкости и по массовой концентрации аммонийного азота, выделяемого в среду в процессе роста. Содержание аммонийного азота в среде определяли с реактивом Несслера. Оказывать фитостимулирующее действие оценивали с помощью внесения бактериальной биомассы азотфиксаторов в грунт. Для этого отобрали штамм, дающий большой урожай – Т.3.8.2.Б и добавили к грунту при выращивании томатов сорта «Балконное чудо».

Кроме того, ранее выделенный штамм *P. peli* 3-Т, обладающий липазной активностью, рассматривали как потенциальную основу препарата для сельского хозяйства или источника липазы, устойчивой к высокой щелочности и минерализации. Для этого готовили ферментативный препарат липазы (разрушали клетки на ультразвуковом дезинтеграторе). Изучали термостабильность препаратов липазы и определяли рН-зависимость липазной активности. Готовили иммобилизованные препараты липазы *P. peli* 3-Т методом включения в гель КМЦ, адсорбцией на кормовых дрожжах и ковалентной сшивкой с активированным хитозаном. Определили массу связанного белка, величину адсорбции белка на носителе и активность иммобилизованного препарата.

Взятые из почвогрунтов старой карты содового шлалоохранилища образцы содержали 12 изолятов бактерий, способных расти на безазотистой селективной среде Эшби. Количество жизнеспособных азотфиксирующих бактерий было определено в точках Т.2, Т.3.8 и Т.3.9 путем посева на чашки Петри и подсчета колониеобразующих единиц (КОЕ). Наибольшее содержание азотфиксаторов было обнаружено в образце грунта Т.2 (1,95·10⁶ КОЕ/г). Вероятно, это связано с тем, что грунт в этом месте отбора пробы содержал ризосферу. Для определения образования и выделения в среду ионов аммония использовали методику определения массовой концентрации аммонийного азота с реактивом

Несслера. Показано, что изоляты Т.3.8.2.Б, Т.3.8.4.Б и Т.3.9.3 в наибольшей степени выделяют аммоний в культуральную жидкость, причем максимум приходится на вторую неделю культивирования. Далее концентрация аммония в культуральной жидкости снижается. Предположительно, это связано с тем, что бактерии поглощают его в процессе своей жизнедеятельности. Наличие ионов аммония в среде подтверждает тот факт, что данные штаммы способны фиксировать молекулярный азот и переводить его в формы, пригодные для потребления растениями. Исследование влияния инокуляции бактериального изолята Т.3.8.2.Б на рост томатов, выращенных в равных с контролем условиях 45-ти суток в контейнерах с обедненным торфогрунтом. Установлено, что внесение азотфиксирующего изолята Т.3.8.2.Б. в грунт оказывает стимулирующее действие на рост растений по сравнению с контрольным вариантом без добавок (увеличение длины корня на 4 см по сравнению с контролем, побега – на 5 см).

Ферментный препарат, содержащий липазу *P. peli* 3-Т, был получен при лизисе клеток ультразвуком. При этом активность повышалась с 3,68 Ед/л у клеточной суспензии до 27,82 Ед/л у лизированных клеток. Изучение зависимости липазной активности от рН показало, что в кислой среде (рН <7) липаза *P. peli* 3-Т неактивна, активность увеличивалась при возрастании рН. Определена термостабильность фермента. Установлено, что липаза *P. peli* 3-Т обладает высокой термостабильностью, воздействие 60 и 70°C в течение часа практически не приводило к падению активности фермента. При воздействии 80 и 90°C активность снижалась, и через 1 ч сохранялось порядка 10% исходной активности. Полученный белковый препарат, содержащий липазу, по-разному адсорбировался на носителях. Так, величина адсорбции липазы из *P. peli* 3-Т составляла 24,49±8,47 мкг/г. А адсорбция белка на активированном хитозане была значительно выше и составляла 532,09±63,62 мкг/г соответственно.

Библиографический список

1. Шилова А.В. Изменения микробиома как индикатор восстановления природных сред содового шламоохранилища АО «Березниковский содовый завод» / А.В. Шилова, А.Ю. Максимов, Ю.Г. Максимова // Вода и экология. Проблемы и решения. 2020. №1(81). С.81–94.
2. Калинина Е.В. Снижение токсичных свойств шламов содового производства с последующей их утилизацией / Е.В. Калинина, Л.В. Рудакова // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов. 2018. Т.329. №6. С.85–96.

3. Горожанин В.М. Альтернативный источник минерального сырья для производства соды в г. Стерлитамаке // Вестник академии наук РБ. 2018. Т.29. №4. С.87–97.

4. Урюмцева Т.И. Разработка рецептуры питательной среды для культивирования бактерий *Azotobacter* / Т.И. Урюмцева, А.М. Кабдрасилова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2019. №3 (173). С.61–65.

5. Сорокина К.Н. Выделение и исследование свойств бактерий термальных источников северного Прибайкалья, обладающих липолитической активностью / К.Н. Сорокина, А.С. Розанов, А.В. Брянская, С.Е. Пельтек // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013.Т.17. №4/1. С.651–658.

Влияние наночастиц оксида графена на функциональную активность нейтрофилов

М.Н. Ракутина

ПГНИУ

Научный руководитель Бочкова М.С., ПГНИУ, ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, г. Пермь, Россия.

Аннотация. Оксид графена (ОГ) – это новый вид наноматериалов, полученных из графена путем его окисления [1]. Важно понимать влияние наночастиц на организм человека, поэтому было проведено исследование эффектов наночастиц оксида графена, модифицированных линейным и разветвленным полиэтиленгликолем, на нейтрофилы человека. Удалось оценить образование активных форм кислорода, фагоцитирующую активность и жизнеспособность нейтрофилов в зависимости от влияния разного типа пегелированного оксида графена.

Ключевые слова: оксид графена, полиэтиленгликоль, люминол- и люцигенин-зависимая хемилюминесценция (ЛЗХЛ), нейтрофилы, активные формы кислорода, фагоцитоз

Графен является двумерной аллотропной модификацией углерода, которая, в зависимости от размеров и структурных вариаций, может обладать разнообразным ценным для биомедицины свойствами: высокой удельной площадью поверхности, способностью к флуоресценции, антимикробной активностью, каталитической активностью [2]. В данной

работе был использован оксид графена, модифицированный линейным и разветвленным полиэтиленгликолем (ПЭГ), в двух концентрациях 5 и 25 мкг/мл. ПЭГ имеет большое значение в областях биотехнологии. Нейтрофилы человека играют существенную роль в защите хозяина от патогенов. Одним из основных способов уничтожения чужеродных объектов нейтрофилами является продукция активных форм кислорода (АФК), изучение которых позволит оценить протекание воспаления, а вместе с этим ответ иммунной системы на раздражитель. В некотором количестве исследований описано увеличение продукции АФК при взаимодействии с наночастицами оксида графена [3]. Одним из методов оценки состояния респираторного взрыва фагоцитирующих клеток является хемилюминесцентный анализ. Основными активаторами хемилюминесценции (ХЛ) на сегодняшний день выступают люминол и люцигенин [4]. Эффекты влияния могут быть различными в зависимости от типа и концентрации использованных наночастиц ОГ [5]. При активации нейтрофилов во время фагоцитоза начинается продукция АФК.

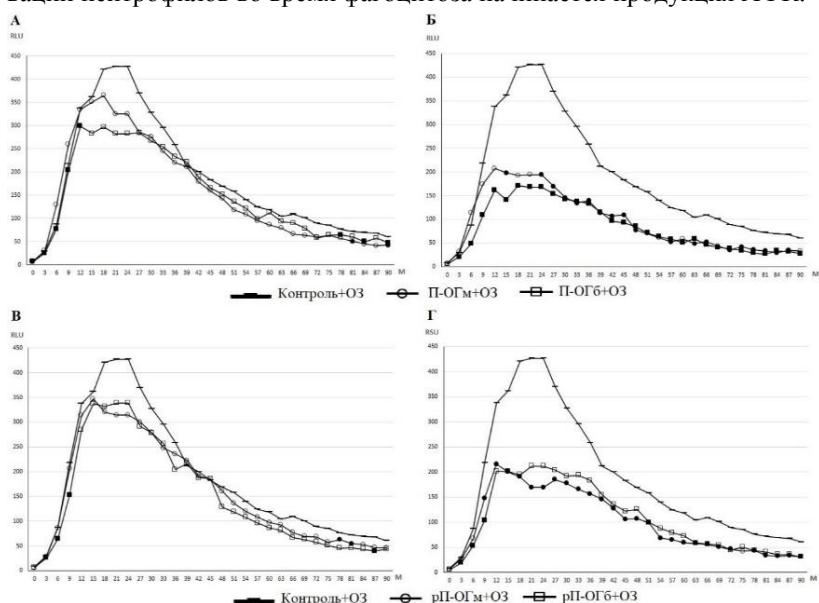


Рис. 1. Влияние разных типов П-ОГ на ЛЗХЛ. Достоверные значения по критерию Фридмана ($p < 0,05$) обозначены заштрихованным (черным) маркером. . Примечание. А, Б – концентрации 5 и 25 мкг/мл соответственно. В, Г – концентрации 5 и 25 мкг/мл соответственно.

ЛЗХЛ позволяет оценить суммарную продукцию АФК. При исследовании люминол-зависимой ХЛ было обнаружено, что статистически достоверно снижали реакцию ЛЗХЛ наночастицы П-ОГ β и рП-ОГ β в концентрации 25 мкг/мл с самого начала реакции (рис. 1).

Таким образом, установлено, что наночастицы ОГ размера, покрытые линейным и разветвленным ПЭГ, при высоких концентрациях (25 мкг/мл) снижали продукцию АФК нейтрофилами в стимулированной варианте люминол-зависимой ХЛ. Когда в качестве активатора использовали люцигенин (рис.2.), получилось, как в случае с люминолом, было обнаружено снижение продукции АФК нейтрофилами в стимулированной люцигенин-зависимой ХЛ при влиянии наночастиц в высоких концентрациях (25 мкг/мл).

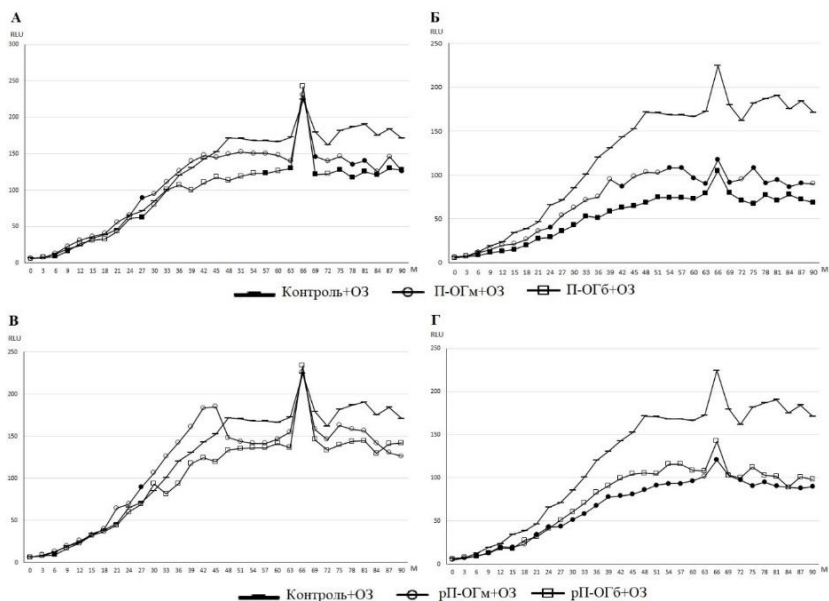


Рис. 2. Влияние разных типов П-ОГ на ЛЗХЛ. Достоверные значения по критерию Фридмана ($p < 0,05$) обозначены заштрихованным (черным) маркером. Примечание. А, Б – концентрации 5 и 25 мкг/мл соответственно. В, Г – концентрации 5 и 25 мкг/мл соответственно.

Таким образом, было установлено, что наночастицы ОГ разного размера, модифицированные линейным и разветвленным ПЭГ, снижали

люминол- и люцигенин-зависимую зимозан-стимулированную ХЛ, следовательно, снижали продукцию АФК нейтрофилами. Это означает, что ПЭГ может использоваться для улучшения антиоксидантной способности наночастиц, то есть для нейтрализации АФК.

Библиографический список

1. Корнилов Д.Ю. Оксид графена – новый электродный наноматериал для химических источников тока. // Хроника. – 2021. – Том. – 12. – №1. – С. 105-108
2. Бочкова М.С., Тимганова В.П., Храмцов П.В., Ужвиюк С.В., Шардина К.Ю., Нечаев А.И., Раев М.Б., Заморина С.А. Изучение влияния наночастиц оксида графена на люминол-зависимую хемилюминесценцию лейкоцитов человека // Медицинская иммунология. 2020. – Том 22. – №5. – С. 977-986.
3. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция // Успехи биологической химии. 2009. Т. 49. С. 341–388
4. Коленчукова О. А., Савченко А. А., Смирнова С. В. Особенности люминол- и люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов у больных хроническим риносинуситом // Медицинская иммунология. – 2020. – Том 12. – № 4–5. – С. 437–440.
5. П.В. Храмцов, М.Б. Раев, В.П. Тимганова, М.С. Бочкова, С.А. Заморина. Взаимодействие наночастиц оксида графена с клетками иммунной системы. // Гены & Клетки. – 2020. – Том. 15. – №3. – С. 29-39.

Ответные реакции актиномицетов *Rhodococcus cerastii* на воздействие ибупрофена

М.В. Субботина

ПГНИУ

Научный руководитель – д-р биол. наук, проф., акад. РАН

И.Б. Ившина, ПГНИУ

Аннотация. Штамм *Rhodococcus cerastii* ИЭГМ 1243 является перспективным деструктором ибупрофена, который в свою очередь относится к группе токсических для окружающей среды соединений. Изучение ответных реакций родококков может стать ключом к созданию новых экологически безопасных технологий очистки водных ресурсов от фармполлютантов.

Ключевые слова: биодеструкция, родококки, ибупрофен.

За последние сто лет общемировое использование водных ресурсов возросло в шесть раз и продолжает неуклонно повышаться под воздействием таких факторов, как демографический рост, экономическое развитие и меняющиеся модели потребления [1,2]. На фоне нерегулируемого использования фармацевтических препаратов и неправильной утилизации лекарственных отходов возникла новая проблема мирового масштаба – медикаментозное загрязнение окружающей среды. На сегодняшний день ибупрофен повсеместно детектируется в поверхностных, грунтовых и сточных водах в широком диапазоне концентраций до 6000 мкг/л, что создает угрозу безопасности водных ресурсов [3].

Основная опасность лекарственных средств для окружающей среды заключается в том, что препараты проявляют биологическую активность уже при малых концентрациях. Кроме этого, документально подтверждено токсическое воздействие ибупрофена на позвоночных и беспозвоночных животных, микроводоросли, а также бактериальные консорциумы [4-5].

Целью данного исследования было изучить общие механизмы защиты и адаптации клеток *R. cerastii* ИЭГМ 1243 при воздействии ибупрофена. В качестве посевного материала использовали штамм *R. cerastii* ИЭГМ 1243 (GenBank # MZ234149) из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним ИЭГМ, номер Уникальной научной установки 73559, номер 285 во Всемирной федерации коллекции культур,

<http://www.iegmcsl.ru>). Родококки, предварительно выращенные в мясопептонном бульоне, вносили в среду культивирования до конечной оптической плотности D_{600} 0,2, что соответствует 1×10^7 КОЕ/мл. В работе использовали модифицированную минеральную среду “К”. Ибупрофен вносили в концентрации 0,1 и 0,2 г/л, смесь ибупрофена и кетопрофена – в концентрации 0,1 г/л каждого, глюкозу – в концентрации 0,1 г/л, *n*-гексадекан – 0,1 об.%.

Методом SAT-теста была измерена гидрофобность клеточных поверхностей *R. cerastii*, с помощью АСМ-микроскопии исследовали размеры и рельеф клеток, динамику содержания внутриклеточных липидов, белков и полисахаридов изучали методом флюоресцентного микроскопирования, дыхательную активность фиксировали с помощью respirometra, убыль ибупрофена в культуральной среде регистрировали методом ВЭЖХ.

В результате исследований экспериментальным путем были определены следующие ответные реакции родококков на присутствие в среде фармполлютанта: формирование агрегатов, увеличение гидрофобности, объемов клеток, содержания суммарных клеточных липидов, а также продукции полисахаридного матрикса. Остаточное содержание ибупрофена на 8-е сут эксперимента в присутствии косубстрата глюкозы составило 13,8%, а *n*-гексадекана – 30,6%.

По результатам проведенных исследований классифицированы выявленные ответные реакции родококков на присутствие ибупрофена: 1) уклонение от воздействия экстрессора, 2) защита от токсического воздействия фармполлютанта, 3) атака/нейтрализация экстрессора.

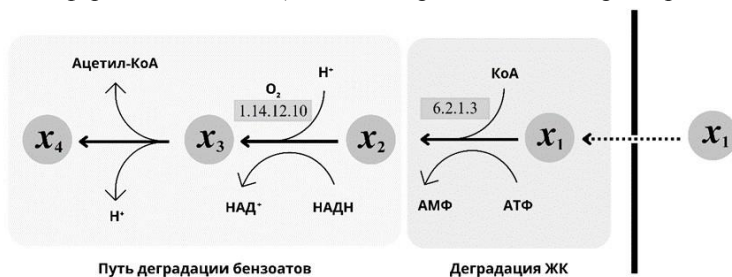


Рисунок 1 – Метаболизм ибупрофена в контексте других путей в клетках *R. cerastii* ИЭГМ 1243. x_1 – ибупрофен, x_2 – ибупрофенил-КоА, x_3 – дигидродиол-ибупрофен-КоА, x_4 – 4-изобутилкатехин.

На основе аннотации полного генома штамма *R. cerastii* ИЭГМ 1243 (Genbank: JAJNDD000000000.1) разработана гипотетическая схема

внутриклеточного метаболизма ибупрофена с участием АВС-субстрат-связывающего транспортного белка, жирнокислотной КоА-лигазы, белка, содержащего N-концевой домен дегидратазы семейства МаоС, тиолазы/белка-переносчика липидов и бензоат 1,2-диоксигеназы (рисунок 1).

В ходе данной работы на примере штамма *R. cerastii* ИЭГМ 1243 обнаружен целый ряд ответных реакций родококков на воздействие ибупрофена, среди которых можно выделить физико-химические, морфометрические и структурно-метаболические. В некоторых условиях родококки адаптировались более успешно к токсическому воздействию ибупрофена. Например, в среде с глюкозой и 0,1 г/л ибупрофена на 8-е сут эксперимента отмечена 86% деструкция экополлютанта, в то время как в среде с *n*-гексадеканом и глюкозой эффективность разложения такого же количества ибупрофена была на 13% ниже. Также клетки метаболизировали ибупрофен в концентрации 0,1 г/л наиболее успешно, чем в концентрации 0,2 г/л.

С учетом полученных экспериментальных данных предложена классификация по типу глобальных ответных реакций бактериальных клеток на воздействие агрессивной среды культивирования. На базе аннотации генома штамма *R. cerastii* ИЭГМ 1243 построена гипотетическая схема метаболизма ибупрофена. Проведенные исследования являются первым шагом к построению стехиометрической модели метаболизма экологически значимого вида *R. cerastii* в отношении ибупрофена.

Библиографический список

1. UNESCO, UN-Water. The United Nations world water development report 2020: Water and climate change. 2020. P. 1–235.
2. Тюмина Е.А., Бажутин Г.А., Картагена Гомез А. д. П., Ившина И.Б. Нестероидные противовоспалительные средства как разновидность эмерджентных загрязнителей // Микробиология. 2020. Т. 89, № 2. С. 152–168.
3. Jan-Roblero J., Cruz-Maya J.A. Ibuprofen: toxicology and biodegradation of an emerging contaminant // *Molecules*. 2023. Vol. 28, № 5. P. 1–15.
4. Çalışıcı D., Yılmaz S., Goktas B. Toxic, genotoxic and teratogenic effects of ibuprofen and its derivatives // *Current drug targets*. 2023. Vol. 24, № 4. P. 361–370.
5. Ellepola N. *et al.* A toxicological study on photo-degradation products of environmental ibuprofen: Ecological and human health implications // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2020. Vol. 188. P. 1–8.

Роль наночастиц оксида графена в регуляции функций Т-лимфоцитов

Д.И. Усанина
ПГНИУ

Научный руководитель – д-р биол. наук, проф. С. А. Заморина, ПГНИУ

Аннотация. Изучали влияние пегилированного оксида графена на жизнеспособность лимфоцитов, их поляризацию в фенотип интерлейкин-17-продуцирующих клеток, а также цитокиновый профиль. В результате проведенного исследования установлено, что наночастицы не оказывают влияния на жизнеспособность клеток. В концентрации 25 мкг/мл наночастицы способны приводить к увеличению числа Th17/22-клеток в культуре, а также снижать число «классических» Th17-клеток. Наночастицы не оказывают влияния на большую часть исследуемых цитокинов, однако повышают секрецию IFN- γ и снижают синтез IL-17. Оказываемые эффекты зависят от типа поверхностной функционализации частиц. При использовании частиц в концентрации 5 мкг/мл влияния на изучаемые параметры клеток не обнаружено.

Ключевые слова: оксид графена, интерлейкин-17-продуцирующие Т-хелперы, цитокиновый профиль

Графен – перспективный материал, который, благодаря уникальным свойствам, является перспективным биомедицинским агентом. Актуальной задачей является изучение и оценка биосовместимости графена, в частности его взаимодействие с клетками иммунной системы. В настоящее время имеются данные о влиянии оксида графена на различные типы клеток иммунной системы, однако отсутствует информация о прямом влиянии наночастиц оксида графена на провоспалительную субпопуляцию ИЛ-17-продуцирующих Т-лимфоцитов (Th17). На восполнение данного пробела направлено данное исследование.

Исследование проводили в соответствии с Хельсинской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации 2000 г. и протоколом Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г., на используемую экспериментальную схему получено разрешение Этического комитета «Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» (IRB00010009) от 30.08.2019. От каждого донора было получено информированное согласие.

В работе использовали наночастицы оксида графена размером 100-200 нм, которые покрывались линейным (П-ОГ) и разветвленным (рП-

ОГ) полиэтиленгликолем [1]. Наивные CD4⁺ Т-клетки получали методом иммуномагнитной сепарации из мононуклеарных клеток периферической крови (N=3). Чистота выделенных наивных Т-клеток была подтверждена окрашиванием (CD45RA-FITC, CD45R0-PE и CD62L-APC) на проточном цитометре CytoFLEX S. Средний процент наивных клеток составил около 70% от гейта лимфоцитов.

Изолированные наивные CD4⁺ клетки культивировали в бессывороточной полной питательной среде TechMACS™ с добавлением 10 мМ HEPES, 2 мМ L-глутамин и пенициллина-стрептомицина-амфотерицина В во влажной атмосфере в CO₂-инкубаторе при 37° С и 5% CO₂ в течение 7 дней без замены среды.

Для индукции лимфоцитов в фенотип Th17 в культуры вносили рекомбинантные цитокины IL-1β, IL-6, IL-23, TGF-β; антитела против IL-4, IFN-β, а также частицы MACSiBead™, нагруженные антителами против CD2, CD3, CD28 человека.

Наночастицы П-ОГ и рП-ОГ добавляли в культуры до конечных концентраций 5 и 25 мкг/мл. Культуры без наночастиц ОГ служили контролем.

Жизнеспособность клеток после 7 дней инкубации, определенная с помощью окрашивания Zombie aqua, составила 96,29± 1,381% от гейта лимфоцитов. После 7 дней культивирования мы определяли общий процент живых Т-лимфоцитов, процент Т-хелперов и их субпопуляции Th17/22, а также процент «классических» Th17 и Th17.1 в популяции CD4⁺CCR6⁺ согласно исследованиям [2, 3, 4, 5].

В супернатантах культур определяли содержание следующих цитокинов и хемокинов: IL-2, IL-4, IL-5, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-17, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, MCP-1, MIP-1β, TNF-α (Bio-Rad).

Установлено, что оксид графена не влиял на жизнеспособность клеток, что согласуется с полученными ранее данными относительно других типов клеток [1, 6, 7].

Установлено, что при использовании частиц П-ОГ в концентрации 25 мкг/мл происходит увеличение числа Th17/22-клеток в культуре. Наночастицы, покрытые разветвлённым видом ПЭГ, не оказывали достоверных эффектов на поляризацию Т-хелперов, но при этом снижали число «классических» Th17-клеток.

При изучении цитокинового профиля было установлено, что при использовании наночастиц, функционализированных линейным ПЭГ в высокой концентрации (П-ОГ 25 мкг/мл) в культурах активированных Т-хелперов повышалась продукция IFN-γ, а при использовании ОГ, модифицированного разветвлённой формой ПЭГ (рП-ОГ 25 мкг/мл) – снижалась секреция IL-17.

Таким образом, оказываемый наночастицами ОГ эффект в данной работе зависел от типа поверхностной функционализации. При использовании частиц в концентрации 5 мкг/мл влияния на изучаемые параметры клеток не обнаружено, поэтому эту концентрацию можно использовать для дальнейших исследований.

Библиографический список

1. Khrantsov P.V., Bochkova M.S., Timganova V.P., Nechaev A.I., Uzhviyuk S.V., Shardina K.Y., Maslennikova I.L., Rayev M.B., Zamorina S.A. Interaction of Graphene Oxide Modified with Linear and Branched PEG with Monocytes Isolated from Human Blood // *Nanomaterials*. 2021. Vol. 12 (1).
2. Eyerich S., Eyerich K., Pennino D., Carbone T., Nasorri F., Pallotta S., Cianfarani F., Odorisio T., Traidl-Hoffmann C., Behrendt H., Durham S.R., Schmidt-Weber C.B., Cavani A. Th22 cells represent a distinct human T cell subset involved in epidermal immunity and remodeling // *J. Clin. Invest.* 2009. Vol. 119. P. 3573–3585.
3. Duhon T., Duhon R., Lanzavecchia A., Sallusto F., Campbell D.J. Functionally distinct subsets of human FOXP3+ Treg cells that phenotypically mirror effector Th cells // *Blood*. 2012. Vol. 119. P. 4430–4440.
4. Luckheeram R., Zhou R., Verma A.D., Xia B. CD4+ T cells: Differentiation and functions // *Clin. Dev. Immunol.* 2012. Vol. 2012.
5. Mahnke Y., Beddall M.H., Roederer M. OMIP-017: Human CD4+ helper T-cell subsets including follicular helper cells // *Cytometry A*. 2013. Vol. 83. P. 439–440.
6. Uzhviyuk S.V., Bochkova M.S., Timganova V.P., Khrantsov P.V., Shardina K.Y., Kropaneva M.D., Nechaev A.I., Rayev M.B., Zamorina S.A. Interaction of Human Dendritic Cells with Graphene Oxide Nanoparticles In Vitro // *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2022. Vol. 172 (5).
7. Timganova V.P., Zamorina S.A., Bochkova M.S., Nechaev A.I., Khrantsov P.V., Shardina K.Y., Uzhviyuk S.V., Rayev M.B. The Effect of Pristine and Pegylated Graphene Oxide Nanosheets on the Functions of Human Neutrophils // 8th Scientific and Practical Conference «Biotechnology: Science and Practice», KnE Life Sciences. 2022. P. 48–57.

Влияние автозаправочных станций на здоровье населения урбанизированных территорий

И.В. Хохлачёв

ПГНИУ

Научный руководитель – д.м. н., профессор *О.Ю. Устинова*, ПГНИУ

Аннотация. В статье рассмотрены автозаправочные станции как источники загрязнения окружающей среды, влияние выбросов станций на здоровье человека и предложены мероприятия для снижения влияния АЗС на безопасность городской среды и здоровье жителей.

Ключевые слова: АЗС, здоровье, выбросы.

Автозаправочные станции (АЗС), являющиеся важнейшим звеном системы нефтепродуктообеспечения, представляют собой сложные инженерные сооружения, оборудованные комплексом автоматизированных систем обеспечения технологического процесса приема, хранения топлив и заправки автотранспортной техники.

По расположению различают дорожные и городские АЗС. К городским АЗС предъявляют более строгие требования по безопасности, в частности допускаемые расстояния до жилых домов, школ, больниц, общественных зданий строго регламентированы.

За последние 7 лет количество автозаправочных станций, автомобилей и людей растёт, так на одну АЗС в среднем по всей России приходится 1,5 тысячи машин и 5,7 тысяч человек. Так, в одной только Москве, по данным Росстата, с 2013 года число автозаправочных станций выросло с 773 до 1197 (на конец 2021 года), а в Пермском крае с 422 до 452.

АЗС является источником постоянного выделения вредных веществ в окружающую среду в результате их эксплуатации. Источниками выделения загрязняющих веществ являются: организованные – дыхательные клапаны от резервуаров, размещенные на высоте 2,5-5 м от уровня земли и на расстоянии 5 м от проездов и площадки для слива; неорганизованные – от пистолета ТРК во время заправки автомобиля; при проливах за счёт стекания нефтепродуктов со стенок заправочных и сливных шлангов; во время слива топлива в резервуары от автоцистерны; от автотранспорта, проезжающего по территории АЗС [1, 2].

Исследования показывают, что ежегодно в результате работы АЗС, рассчитанной на 170-260 заправок в сутки, в атмосферу выделяется

около 1,5 тонн поллютантов, включающие выбросы АИ-95 – 0,25 т/год, АИ-92 – 0,45 т/год, АИ-80 – 0,79 т/год и ДТ – 0,04 т/год. При этом, максимальный выброс бензина разных марок от резервуаров – по 1,13 г/с, от баков автотранспорта – по 0,32 г/с, ДТ – 0,0036 г/с и 0,0031 г/с соответственно. Следовательно, на одну заправку приходится 16 г. выбросов нефтепродуктов в окружающую среду [3].

В среднем доля поллютантов АЗС в атмосфере городов находится на уровне 5-8 %, из них 60 % составляют испарения нефтепродуктов из резервуаров (40 % приходится на «большие дыхания»), 20 % – испарения из бензобаков, заправляемых АТС, а оставшиеся 20 % – отработавшие газы двигателей АТС [3].

Пары испаряющегося топлива содержат ароматические, парафиновые и нафтеновые углеводороды, в число которых входит и высокотоксичные компоненты, представляющие существенную опасность для здоровья человека. Выхлопные газы двигателей внутреннего сгорания включают в себя свыше 200 различных химических соединений, среди которых имеются и канцерогены. Основная часть этих веществ попадает в организм человека непосредственно через дыхательные пути, остальная – через пищевые продукты путем рассеивания в атмосферном воздухе и смывания дождевыми и тальми водами в почву, а также через питьевую воду путем фильтрации загрязнителей из почвы в грунтовые воды.

Выбросы, образующиеся на АЗС, являются одним из существенных источников загрязнения окружающей среды и ведут к значительному ухудшению здоровья человека. Население, проживающее вблизи АЗС, и сотрудники АЗС наиболее подвержены заболеваниям органов дыхания, крови, нервной и сердечно-сосудистой системы [2, 3, 5, 6].

При размещении, проектировании автозаправочных станций должно быть обеспечено выполнение требований по охране окружающей природной среды, учету ближайших и отдаленных экологических, экономических, демографических последствий деятельности автозаправочных станций при приоритете охраны здоровья человека и благосостояния населения. Должны предусматриваться меры по снижению выбросов и сбросов загрязняющих веществ путем использования передового оборудования, систем по улавливанию, обезвреживанию и утилизации вредных выбросов, сбросов, отходов, в том числе паров нефтепродуктов. Принимаемые меры должны обеспечивать соблюдение предельно допустимых концентраций (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе, в сбрасываемых сточных водах, в том числе и поверхностных [4].

Мероприятия по уменьшению выбросов загрязняющих веществ на АЗС [5]:

- поддержание в полной технической исправности резервуаров, технологического оборудования и трубопроводов, обеспечение их герметичности;
- поддержание технической исправности дыхательных клапанов, своевременное проведение их технического обслуживания и соответствующих регулировок;
- обеспечение герметичности сливных и замерных устройств, люков смотровых и сливных колодцев, в том числе и при проведении операций слива нефтепродуктов в процессе их хранения;
- осуществление слива нефтепродуктов из автоцистерн только с применением герметичных быстроразъемных муфт (на автоцистерне и резервуаре АЗС);
- недопущение переливов и разливов нефтепродуктов при заполнении резервуаров и заправке автотранспорта;
- оборудование резервуаров с бензином газовой обвязкой;
- оборудование резервуаров АЗС и топливораздаточных колонок системами (установками) улавливания (отвода), рекуперации паров бензина.

Библиографический список

1. Гармонов К.В. Воздействие автозаправочных станций на экологическую обстановку городской среды // Инженерные системы и сооружения. 2014. №4. С. 123-126.
2. Третьяков А.Е., Кардашевская Е.Г. Влияние городских азс на окружающую среду / Перспективы науки 2021 №6 С84-86
3. Вильданова Л.Р., Щербаков М.В., Минеев И.М. Влияние азс на здоровье человека / Экология и безопасность жизнедеятельности 2018 С.115-118
4. Елистратова А.П., Сергиенко О.И. Наилучшие доступные технологии и оценка воздействия на окружающую среду автозаправочных станций на стадии проектирования / Текст научной статьи по специальности «Энергетика и рациональное природопользование»
5. Верченко Д.Ю. Оценка влияния выбросов загрязняющих веществ на состояние здоровья населения / актуальные вопросы экономики и социологии 2020 с.19-21
6. Корчин В.И., Макаева Ю.С., Корчина Т.Я., Шагина Е.А. Влияние техногенного загрязнения на показатели состояния свободнорадикального окисления и микронутриентного статуса у работников автозаправочных станций, проживающих на территории Хмао – Югры / Здоровье населения и среда обитания 2017 №3, 39-42

Влияние металлургического производства на нейроэндокринную и иммунную системы человека

С.И. Христич

ПГНИУ

Научный руководитель – д.м.н., доцент *Д.В. Ланин*, ПГНИУ, ФНЦ
МПТ УРЗН

Аннотация. Предприятия металлургического производства отличаются большим количеством опасных и вредных производственных факторов среды с различным уровнем их воздействия. Выявлены высокие концентрации ванадия и марганца в воздухе рабочих зон и повышение содержания этих химических веществ в крови групп контроля и наблюдения, а также найдены изменения со стороны нейроэндокринной и иммунной систем у рабочих, имеющие доказанную связь с воздействием обнаруженных в крови химических веществ.

Ключевые слова: металлургическое производство, тяжелые металлы, превышение концентраций химических веществ в крови.

Влияние неблагоприятных факторов производственного процесса сказывается на состоянии здоровья работающих и в ряде случаев способствует развитию заболеваний производственного характера даже при малой или средней интенсивности их параметров [6]. На современном этапе развития человечества загрязнение среды обитания химическими факторами стало стабильным и глобальным действующим фактором риска, вызывающим расстройство здоровья, что подтверждается многочисленными исследованиями [4, 6].

Воздействие химических факторов среды обитания вызывает разнообразные негативные эффекты практически на все органы и системы человека [4]. Однако на основании научных исследований, можно говорить о формировании нарушений и заболеваний по приоритетно поражаемым системам. К числу таких систем относят регуляторные (нейроэндокринную и иммунную) системы [2].

Цель – изучить влияние химических факторов металлургического производства на регуляторные системы сотрудников. Объектом исследования явились взрослые рабочие металлургических производств в возрасте от 20 до 60 лет разного полового состава, имеющие в процессе работы непосредственный контакт с химическими веществами. Всего обследовано 128 человек. Группа наблюдения – 69 женщин и 11 мужчин, работающих на предприятии черной металлургии с полным цик-

лом выпуска металла или феррованадия, и группа контроля – 17 женщин и 31 мужчина, не имеющих непосредственного контакта с химическими веществами (административный персонал, метрологи, контролеры).

При анализе содержания пылевых фракций в воздухе рабочей зоны на рабочих местах выявлено, что сильное воздействие на состояние здоровья человека оказывают ванадийсодержащие шлаки (пыль), так как содержание их в воздухе превышает ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны в 2,3-19,3 раза. А содержание оксида марганца превышает ПДК в 1,3-7,8 раза [5].

Анализируя содержание химических веществ в сыворотке крови групп контроля и наблюдения, обнаружено значимое повышение уровня ванадия, кремния и марганца по отношению к контролю.

Таблица

Содержание химических веществ в крови групп контроля и наблюдения (мкг/см³)

Показатели	Контроль	Наблюдение	<i>p</i>
Ванадий	0,00109±0,00017	0,00303±0,00074	0,0000
Кремний	1,941±0,142	2,489±0,267	0,0004
Марганец	0,015±0,0023	0,0238±0,0034	0,0000

Для определения изменений в эндокринной системе определяли содержание в сыворотке крови кортизола, тиреотропный гормона (ТТГ) и Т₄ свободного. Выявлено значительное повышение содержания кортизола в группе наблюдения по отношению к группе контроля. Содержание гормонов Т₄ свободного и ТТГ находятся в пределах нормы, но оба показателя ниже, чем в контрольной группе. Содержание иммуноглобулинов IgG, IgM ниже по сравнению с группой контроля, следовательно, функциональная активность снижена. Содержание IgA в обеих исследуемых группах превышает физиологическую норму, что говорит о высокой активности иммунной системы. Чаще всего избыток иммуноглобулина А сопровождает инфекции кожи, слизистых оболочек и дыхательных путей [3]. Фагоцитарный индекс группы наблюдения ниже по отношению к физиологической норме и группе контроля, следовательно, работоспособность лейкоцитарных клеток снижена. Фагоцитарное число группы наблюдения существенно ниже физиологической нормы и ниже по сравнению группы контроля (наблюдение – 0,64±0,06 усл.ед., сравнение – 0,76±0,09 усл.ед.), но и в группе контроля наблюдается показатель также ниже физиологической нормы (0,8-1,2 усл.ед.).

Это обусловлено воздействием марганца, ванадия и кремния на работающих [5].

Учитывая данные о превышении содержания металлов и кремния, было проведено исследование моделей зависимости «маркер экспозиции – маркер эффекта». В результате найдены значимые связи между снижением показателей фагоцитарной активности и содержанием IgG и повышением концентрации ванадия. Повышение концентрации марганца ассоциировано со стороны эндокринной системы с увеличением содержания кортизола, концентрация которого у группы наблюдения повышена. Говоря о маркерах, отметим, что у сотрудников повышено в крови содержание ванадия, марганца и кремния, что свидетельствует о возможности нарушения физиологических нейроэндокриноиммунных связей.

В результате работы обнаружены значимые изменения со стороны регуляторных систем, часть из которых имеет доказанную связь с воздействием изученных химических факторов производственной среды, содержание которых превышено в группе наблюдения.

Библиографический список:

1. Зайцева Н.В., Ланин Д.В., Черешнев В.А. Иммунная и нейроэндокринная регуляция в условиях воздействия химических факторов различного генеза: Монография. – Изд-во Перм. Нац. Исслед. Политехн. Ун-та, 2016. – 236 с.
2. Зайцева Н.В., Устинова О.Ю., Аминова А.И. Гигиенические аспекты нарушения здоровья детей при воздействии химических факторов среды обитания. – Пермь: Книжный формат, 2011. – 489 с.
3. Новик Г.А. Механизмы аллергических реакций и методы аллергообследования в клинической практике. Учебно-методическое пособие составлено под редакцией заслуженного деятеля науки РФ, д.м.н., профессора И.М.Воронцова – СПб.: Издание ГПМА, 2004, – 76 с.
4. Онищенко Г.Г., Зайцева Н.В., Землянова М.А. Гигиеническая индикация последствий для здоровья при внешнесредовой экспозиции химических элементов. – Пермь: Книжный формат, 2011. – 532 с.
5. Роспотребнадзор. [Сайт]. URL: <https://45.rospotrebнадзор.ru/> (дата обращения: 20.04.2022.).
6. Суворов В.Г. Медико-биологические основы оценки сочетанного влияния факторов производственной среды и трудового процесса на организм человека. / Суворов В.Г.// автореф. дисс.... д.м.н. М.,- 2004. – 48с.

Физиолого-биохимическая характеристика бактерий-продуцентов гидролитических ферментов из почвенной среды с высокой степенью минерализации

А.О. Худякова

ПГНИУ

Научный руководитель – кандидат биологических наук, доцент

А.Ю. Максимов

Аннотация. В статье рассмотрены физиолого-биохимические характеристики бактерий-продуцентов гидролитических ферментов из почвенной среды с высокой степенью минерализации. Определено влияние различных факторов среды на активность гидролитических ферментов.

Ключевые слова. Ферменты, липолитическая активность, температура

Актуальность: Галоалкалофилы обладают рядом ферментов, которые помогают им выживать в условиях высокой минерализации и щелочного pH. Уникальные свойства экстремозимов заключаются в их устойчивости к экстремальным физико-химическим условиям. Ферменты, синтезируемые данными микроорганизмами, как правило, обладают повышенной активностью и стабильностью в различных неблагоприятных условиях и представляют большой интерес для промышленности.

Объекты исследования: изоляты из рабочей коллекции Лаборатории молекулярной биотехнологии ИЭГМ УрО РАН, полученные ранее (2014-2017 г). В качестве тест-штаммов были использованы культуры бактерий *Bacillus aequorogis* (B.A) и *Pseudomonas peli* ЗТ бел (ЗТ бел)

Методы:

1. Рост культуры бактерий оценивали по изменению оптической плотности суспензии клеток при $\lambda=540$ нм с учетом разведения.

2. Для оценки pH на рост и активность изолятов варьировали pH среды в диапазоне от 6 до 11.

3. Для определения липолитической активности изолятов, выращенных на селективной среде с твин-80, проводили биохимическую реакцию с p-нитрофениллауратом, который под действием липазы расщеплялся с образованием окрашенного продукта p-нитрофенола (Bulow, Mosbach, 1987).

Активность липазы определяли по приросту оптической плотности среды при λ 405 нм, измеренной на спектрофотометре Ultraspec 3000 «GE Healthcare», (США). Суспензию клеток (4 мл) помещали в пробирку типа эппендорф и центрифугировали при 5000 об./мин в течение 20 минут. Далее отделяли 60 супернатант в отдельную пробирку, а осадок промывали 2-3 раза и ресуспендировали в фосфатном буфере $\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{NaH}_2\text{PO}_4$, pH 8. Затем вносили 50 мкл субстрата (p-нитрофениллаурат) в конечной концентрации 10 мМ и проводили реакцию при 25° С в течение часа.

Расчет проводили по формуле:

$$E = \text{ОП} * 10^6 / (10^3 * l * t, \text{ где}$$

ОП – оптическая плотность; 10^6 – коэффициент пересчета моль в мкмоль; $18,3 \cdot 10^3$ – коэффициент молярной экстинкции p-нитрофенола, л·см⁻¹·моль⁻¹; l – толщина кюветы, см; t – время инкубации пробы, мин.

Для исследования влияния температуры изменяли ее с 20° до 90 °С с шагом 10°С. Для определения термостабильности гидролитических ферментов рассчитывали их липолитическую активность.

Обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью пакета программ Microsoft Office Excel.

Выводы:

- Наибольшая активность у ферментного препарата В.А наблюдалась в приготовленных растворах, активная кислотность которых равна 8 у.е. У ЗТ бел в растворах, активная кислотность которых находилась в диапазоне 9- 10 у.е.;
- В.А и ЗТ бел активны даже при высоких температурах;
- Большой чувствительностью к изменению температуры обладает ЗТ бел.
- На активность влияет не только повышение температуры, но и время инкубации.

Библиографический список

1. Безбородов, А.М. Липазы в реакциях катализа в органическом синтезе (обзор) / А.М. Безбородов, Н.А. Загустина // Прикл. биохимия и микробиология. – 2014. – Т. 50, № 4. – С. 347-373.
2. Морозкина, Е.В. Экстремофильные микроорганизмы: биохимическая адаптация и биотехнологическое применение (обзор) / Е.В. Морозкина, Э.С. Слуцкая, Т.В. Фёдорова, Т.И. Тугай, Л.И. Голубева, О.В. Королёва // Прикладная биохимия и микробиология. – 2010. – Т. 46, №1. – С. 5-20.

3. Раднагуруева, А.А. Разнообразие прокариот – деструкторов экстремальных местообитаний Байкальской рифтовой зоны: Учебное пособие / А.А. Раднагуруева, Е.В. Лаврентьева, Д.Д. Бархутова, Т.Г. Банзаракцаева, Б.Б. Намсараев. Улан-Уде, 2012. – 64 с.

4. Самойлова, Ю.В. Изучение свойств бактериальных термостабильных липолитических ферментов и биокатализаторов в реакциях гидролиза и перэтерификации: дис. ...канд. биол. наук: 03.01.06 / Юлия Валерьевна Самойлова. – 2018. – 130 с

5. Саралов, А.И. Адаптивность экстремофилов Archaea и Bacteria / А.И. Саралов // Микробиология. – 2019. – Т. 88, № 4. – С. 377-400.

Иммунотропные эффекты моноацилтрегалозной фракции *Rhodococcus*-биосурфактанта

Ю.Д. Южанинова^{1,2}, С.В. Гейн^{1,2}

¹ПГНИУ

²ИЭГМ УрО РАН

Аннотация. Установлено, что пероральное введение моноацилтрегалозной фракции биосурфактанта в дозе 100 мг/кг вызывало подавление антителогенеза и иммунного воспаления при гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), что свидетельствует об угнетении гуморального и клеточно-опосредованного иммунитета. Выявленные иммунорегуляторные свойства углеводной фракции *Rhodococcus*-биосурфактанта могут быть использованы для разработки новых лекарственных средств.

Ключевые слова: моноацилтрегалоза, антителогенез, гиперчувствительность замедленного типа

Биосурфактанты – это поверхностно-активные амфифильные биомолекулы, вырабатываемые микроорганизмами, растениями и высшими животными в процессе их жизнедеятельности [1]. Наиболее активно их выделяют микроорганизмы, что облегчает использование источников углерода с низким сродством к воде, например, углеводородов [2]. Преимуществами биосурфактантов являются не только биодegradабельность и низкая токсичность, но и способность проявлять антибактериальную, противогрибковую, противовирусную, противоопухолевую или иммуномодулирующую активность в зависимости от структуры молекул [3].

Наиболее перспективными для применения в качестве иммуномодуляторов являются биосурфактанты, продуцируемые *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus* [4]. В сравнении с биоПАВ патогенных бактерий трегалолипиды рода *Rhodococcus* обладают меньшей токсичностью [5]. Иммуномодулирующий потенциал биосурфактанта бактерий *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231 начал изучаться лишь недавно, но результаты работ, посвященных данному исследованию, свидетельствуют о его способности влиять не только на врожденный, так и на адаптивный иммунитет [6]. Иммуномодулирующая активность биосурфактанта *Rhodococcus ruber* обусловлена наличием в его составе активной моноацилтрегалозной фракции. Механизм действия данной фракции основан на взаимодействии с основными рецепторами клеточной мембраны Mincle и MCL, активирующими экспрессию транскрипционного фактора NF-kb. Также распознавание и презентация трегалолипидов Т-лимфоцитам и В-лимфоцитам осуществляется при помощи рецептора CD1b [7].

Цель работы – исследовать влияние моноацилтрегалозной фракции *Rhodococcus ruber*-биосурфактанта на гуморальный и клеточно-опосредованный иммунитет в системе *in vivo*.

Материалы и методы. Все эксперименты были проведены на мышах линии Swiss средней массой 20-25 г. в соответствии с этическими нормами. Выведение мышей из эксперимента проводили путем декапитации под эфирным наркозом. Моноацилтрегалозную фракцию и биосурфактант вводили мышам в дозе 100 мг/кг перорально ежедневно в течение 5 дней. Все животные были разбиты на 3 группы: 1-я группа – контрольная (мышам этой группы перорально вводили 0,002 мл 0,9% NaCl); 2-я – моноацилтрегалоза; 3-я – биосурфактант. Фракция моноацилтрегалозы получена из биосурфактантного комплекса *R. ruber* ИЭГМ 231 методом флэш-хроматографии.

Через три часа после введения веществ животным вводили сенсibilизирующую дозу антигена – эритроциты барана (ЭБ) – по 0,2 мл внутривенно в дозе 1×10^9 клеток/мышь. На 4-е сутки для индукции локального иммунного ответа после введения дозы веществ животных иммунизировали эритроцитами барана под кожу правой стопы (10^8 ЭБ/0,02 мл физиологического раствора); в контрольную стопу вводили 0,02 мл физиологического раствора). На 5-е сутки, на пике иммунного ответа, определяли количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке методом локального гемолиза в геле агарозы и оценивали выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) путём регистрации массы и толщины опытной и контрольной стопы. Статистический анализ результатов проводили с использованием непарного t-критерия Стьюдента.

Результаты. Установлено, что введение моноациллтрегалозной фракции приводило к статистически достоверному снижению абсолютного числа АОК в селезенке. Относительное число АОК под воздействием моноациллтрегалозы не изменялось. Биосурфактант на антителиногенез не влиял.

При анализе влияния бактериальных веществ на выраженность локального иммунного воспаления в стопе было установлено, что при пероральном способе введения моноациллтрегалоза приводила к статистически достоверному снижению выраженности иммунного воспаления в сравнении с контрольной группой. Введение биосурфактанта статистически значимого влияния на ГЗТ не оказывало.

Заключение. Таким образом, моноациллтрегалозная фракция *Rhodococcus ruber*-биосурфактанта оказывает угнетающее влияние на гуморальный и клеточно-опосредованный иммунитет, что делает её перспективной основой для разработки новых лекарственных средств.

Библиографический список

1. Banat I. M., Thavasi R. (Eds.) Microbial Biosurfactants and Their Environmental and Industrial Applications. Boca Raton, Fla., CRC Press, 2019. 372 p.
2. Ron E. Z., Rosenberg E. Natural roles of biosurfactants: Minireview //Environmental microbiology. – 2001. – Т. 3. – №. 4. – С. 229-236.
3. Satpute S. K. et al. Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms //Biotechnology advances. – 2010. – Т. 28. – №. 4. – С. 436-450.
4. Fenibo E.O. et al. Microbial surfactants: The next generation multifunctional biomolecules for applications in the petroleum industry and its associated environmental remediation //Microorganisms. – 2019. – Т. 7. – №. 11. – С. 581.
5. Kuyukina M. S. et al. Trehalolipid biosurfactants from nonpathogenic *Rhodococcus* actinobacteria with diverse immunomodulatory activities //New biotechnology. – 2015. – Т. 32. – №. 6. – С. 559-568.
6. Кочина О. А., Куюкина М. С., Ившина И. Б. Влияние *Rhodococcus*-биосурфактанта и его доминирующей фракции на выраженность гуморального ответа в системе *in vivo* //Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19. – №. 5. – С. 43-44.
7. Гейн С. В. и др. Влияние моноациллтрегалозной фракции *Rhodococcus*-биосурфактанта на показатели врождённого и адаптивного иммунитета *in vivo* //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2020. Т. 169, №. 4. С. 457–461.

СЕКЦИЯ «ЗООЛОГИЯ»

Мониторинг размерных и возрастных показателей бычка-кругляка р. Кама в районе г. Оса

А.А. Ардашева, С.Э. Коротаева
ПГНИУ

Аннотация. Бычок-кругляк, *Neogobius melanostomus*, представитель понто-каспийского фаунистического комплекса, является одним из активных инвазионных видов в пресных водоемах. В бассейне р. Кама бычок-кругляк появился в 2002 году, а с 2011 года является объектом изучения ихтиологов ПГНИУ. В работе приводятся результаты мониторинга размерного и возрастного состава на основе выборок в пределах модельной площадки за период наблюдения. Регулярная оценка этих параметров необходима для прогнозирования последствий инвазии.

Ключевые слова. Бычок-кругляк, размерные и возрастные параметры.

В конце XX века инвазии рыб в пресноводных экосистемах приобрели характер массовой взрывной экспансии, особенно для представителей семейства *Gobiidae* [3]. Этот процесс в значительной мере связан с зарегулированием стока крупных рек. При создании водохранилищ значительно снизились скорости течения, увеличилась теплоёмкость водных масс, значительно возросла гетерогенность среды [1] и сформировались новые экологические ниши, которые могут использовать виды-вселенцы. Одним из успешных инвазионных видов семейства *Gobiidae* является бычок-кругляк (*Neogobius melanostomus*, Pallas, 1814), автохтон и эндемик понто-каспийского фаунистического комплекса [2]. В бассейне р. Кама бычок-кругляк впервые зарегистрирован в 2002 году. В настоящее время является массовым видом. Быстрый рост численности бычка-кругляка в некоторых водоёмах вызывает тревогу, так как проникновение этого вида за пределы нативного ареала может привести к негативным последствиям [5].

Материалом для работы послужили 152 экземпляра бычка-кругляка, собранные 1.06-13.08.2022 года в средней части Воткинского водохранилища в окрестностях г. Осы. Место лова расположено в зоне, где проводились исследовательские обловы в 2011-2014 годах. Лов производился в прибрежной зоне, на небольших глубинах, с помощью крючковой снасти, в соответствии со способом лова в предыдущие периоды.

Лов крючковой снастью признан достаточно надежным способом для оценки популяционных параметров [5].

В бассейне р. Кама, являющейся северной границей инвазионного ареала, в первые годы наблюдений бычок-кругляк характеризовался небольшими размерами (табл. 1). По данным 2022 года средние линейные размеры бычков-кругляков в уловах незначительно увеличились, но отличия статистически достоверны только при сравнении с наиболее многочисленной пробой 2013 года. В 2022 году несколько увеличилась вариабельность линейных размеров бычков в уловах. В сборах 2022 года отмечено увеличение максимальных весовых размеров особей.

Таблица 1
Размерный состав бычка-кругляка бассейна реки Кама окрестности г. Осы (l, мм; p, г)

Дата сборов	Линейные размеры	Весовые размеры	Кол-во экз	Автор, год
2011	$\frac{45,5-105,5}{61,1}$	0,7-10,7	62	Коротаяева, Шагальева, 2012
2013	$\frac{32,0-106,2}{54,3}$	0,6-25,7	299	Шагальева, 2014
2014	$\frac{44,5-110,0}{62,9}$	1,79-21,74	50	Русских, 2015
2022	$\frac{35,4-115,8}{66,0}$	0,9-38,3	152	Ардашева, 2023

Для определения частоты встречаемости размерных групп, в составе выборки сформированы группы с шагом 15 мм (рис. 1). Установлено, что в уловах доминируют бычки размером от 66-80 мм (40,1 %) и 51-65 мм (37,5%). Наиболее малочисленными оказались группы 96-110 мм (0,7 %) и 111-125 мм (1,3%). Низкая доля мелких особей (35-50 мм; 9,9%) объясняется, скорее всего, селективностью орудия лова.

Учитывая, что бычки-кругляки в р. Кама участвуют в нересте уже при длине 45 мм [4], доминирующую группу составляют впервые созревающие и половозрелые особи.

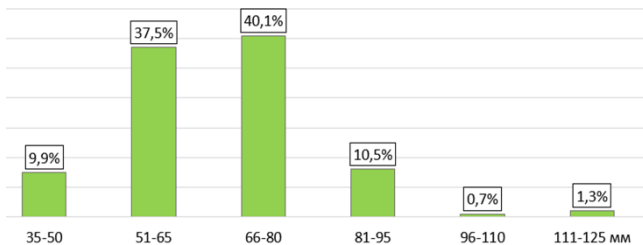


Рисунок 1. Процентное соотношение размерных групп бычка-кругляка в пробах 2022 года на р. Кама, окрестности г. Осы (1, мм)

По данным предыдущих лет, в уловах бычка-кругляка этого участка может встречаться до 5 возрастных групп (табл. 2). Возрастная структура бычка-кругляка в р. Кама по данным уловов 2022 года представлена 4 возрастными группами. Не обнаружены сеголетки, которые и ранее обнаруживались единично из-за селективности орудий лова. В уловах 2022 года доминируют трех- и четырехлетки, соответственно 45,4% и 40,1%, которые активно участвуют в нересте. Незначительная доля особей возраста 4+ лет, согласуется с физиологическими особенностями бычка кругляка: коротким жизненным циклом, высокой смертностью после нереста. Обнаружено существенное снижение доли молодых особей (1+лет – 9,9%).

Таблица 2

Возрастной состав бычка-кругляка по данным исследований разных лет, %

Дата сборов	Возрастные группы, лет					Кол-во экз.
	0+	1+	2+	3+	4+	
2011	-	38,3	48,9	12,8	-	62
2013	1,3	32,1	45,5	18,1	3,0	299
2014	-	-	42,0	56,0	2,0	50
2022	-	9,9	45,4	40,1	4,6	152

Таким образом, в результате анализа наблюдений, установлены тенденции к увеличению вариабельности и абсолютных размеров, к снижению доли молодых особей, при сохранении значительного количества половозрелых особей. Установленные особенности свидетельствуют об успешной натурализации и относительно благополучном состоянии вида в бассейне р. Кама.

Библиографический список

1. Авакян А.Б., Широков В.М. Рациональное использование и охрана водных ресурсов. Екатеринбург. 1994. 320 с.
2. Москалькова К.И. Экологические и морфо-физиологические предпосылки к расширению ареала у бычка-кругляка *Neogobius melanostomus* в условиях антропогенного загрязнения водоемов// Вопр. ихтиологии. 1996. Том 36. 615–621 с.
3. Слынько Ю.В. и др. Инвазии чужеродных рыб в бассейнах крупнейших рек Понто-Каспийского бассейна: состав, векторы, инвазионные пути и темпы. // Российский журнал биологических инвазий. 2010. Вып. 4. С. 74 – 89.
4. Шагалыева С.Р. Бычок-кругляк – аутоакклиматизант бассейна средней Камы. Магистерская диссертация. Пермь. 2014. 67 с.
5. Brandner J., Pander J., Mueller M., Cerwenka A. F. and Geist J. Effects of sampling techniques on population assessment of invasive round goby *Neogobius melanostomus*. *Journal of Fish Biology*. 2013.

Морфологическая изменчивость уссурийской востробрюшки в бассейне Амура

*А.А. Белоусова*¹, *П.Б. Михеев*^{1,2}

¹ПГНИУ;

²ХабаровскНИРО, Хабаровск, Россия.

Аннотация. Проведен анализ морфологической изменчивости уссурийской востробрюшки, собранной в разнотипных биотопах реки Амур в пределах Нанайского района Хабаровского края и Еврейской Автономной области. В результате попарного сравнения выборок больше всего друг от друга отличались особи Нижнего Амура от особей из Среднего Амура. Наименьшие различия выявлены между особями биотопы, которых расположены относительно близко друг к другу. Выявленные различия в морфологии рыб обследованных биотопов могут свидетельствовать об адаптации востробрюшки к локальным условиям обитания и могут указывать на потенциальное существование экологических форм вида в пойме и русле Амура. Поскольку наши результаты получены на основе разовых сборов, необходимо продолжение работы для выявления пространственно-временной изменчивости экологической дифференциации вида в нативном ареале.

Ключевые слова: морфологическая изменчивость, уссурийская востробрюшка, Амур.

Полиморфизм, или способность вида изменять свой фенотип в ответ на условия окружающей среды, является важной чертой, позволяющей организмам лучше приспосабливаться к новым или изменяющимся условиям окружающей среды (Uller 2008; Burton, Metcalfe 2014). Уссурийская востробрюшка *Hemiculter lucidus* является одним из основных объектов питания хищных рыб Амура, представляя собой важный элемент экосистемы. Нативный ареал вида — это река Амур, кроме того, вид непреднамеренно был интродуцирован в Средней Азии [Берг, 1949; Никольский, 1956; Аннотированный каталог..., 1998; Атлас..., 2002]. Поскольку инвазионный успех во многом определяется экологической пластичностью вида, можно предположить существование экотопической дифференциации уссурийской востробрюшки в нативном ареале. Однако на данный момент данных о морфологической изменчивости уссурийской востробрюшки в литературе нет. Целью работы является изучение морфологической изменчивости уссурийской востробрюшки, собранной в разнотипных биотопах реки Амур в пределах Нанайского района Хабаровского края и Еврейской Автономной области.

Для выявления биотопической изменчивости уссурийской востробрюшки использовались методы морфологического анализа, сбор материала производился в пределах Среднего (село Головино, Еврейская автономная область) и Нижнего Амура (поселок Синда, Нанайский район, Хабаровский край). В Хабаровском крае было два места лова: озеро Широкий плес (48°59'28,7" 136°16'58,3) и р. Амур (49°00'30,5", 136°14'15,0"). В Еврейской автономной области три места лова: протока Головинская (48°09'15,0", 133°15'58,6"), протока Хлебница (48°09'54,9", 133°15'57,7") и залив Поперечный (48°09'54,2", 133°20'22,4"). Отлов проводили ставными сетями с сечением ячеи 10 мм, длиной 30 м, высотой 1,5 м с застоем сети 1 ч. Рыб фиксировали в 4% формалине, морфологический анализ проводили согласно методическим рекомендациям Правдина И. Ф. (1966). Статистическая обработка данных и визуализация результатов происходила в программе RStudio [R Core Team, 2020]. Выборки сравнивали с использованием критерия Вилкоксона и дискриминантного анализа. Использован стандартный уровень значимости ($p=0,05$).

В результате попарного сравнения выборок больше всего друг от друга отличались особи Нижнего Амура от особей из Среднего Амура, а также из оз. Широкий плес и пр. Головинская, в меньшей степени из реки Амур и оз. Широкий плес. Наименьшие различия выявлены между

особями биотопы, которых расположены относительно близко друг к другу.

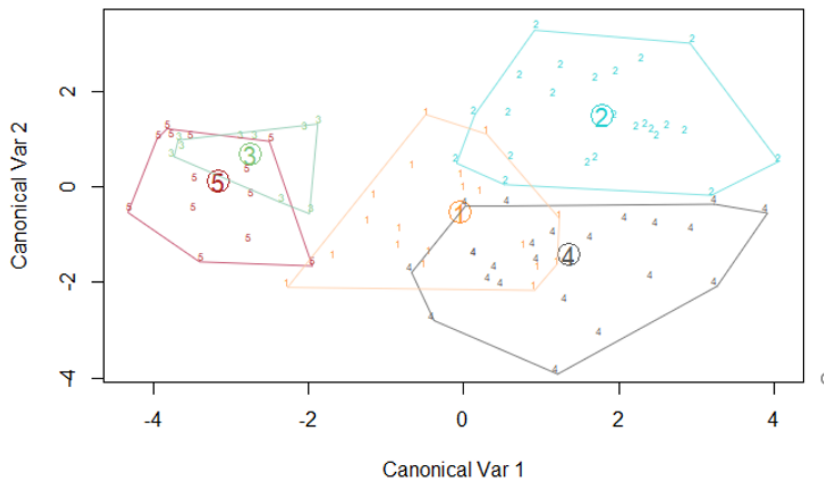


Рис.3. Различия уссурийской востробрюшки пр. Головинская (1), пр. Хлебница (2), оз. Широкий плес (3), зал. Поперечный (4), р. Амур (5) по морфологическим признакам в пространстве двух канонических переменных по результатам дискриминантного анализа

Выявленные различия в морфологии рыб обследованных биотопов могут свидетельствовать об адаптации востробрюшки к локальным условиям обитания и могут указывать на потенциальное существование экологических форм вида в пойме и русле Амура. Изменчивость морфотипа, может являться предпосылкой для успешности инвазии востробрюшки (Юлдашов, 2018). Поскольку наши результаты получены на основе разовых сборов, необходимо продолжение работы для выявления пространственно–временной изменчивости экотопической дифференциация вида в нативном ареале.

Библиографический список

1. Аннотированный каталог круглоротых и рыб континентальных вод России // Под ред. Ю.С.Решетникова. М.: Наука, 1998. Атлас пресноводных рыб России: В 2 т. Т.1. // Под ред. Ю.С. Решетникова. М.: Наука, 2002.
2. Берг Л.С. 1949. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран. М.; Л.: Изд-во АН СССР. Т 2 С. 469-929.

3. Никольский Г.В., 1956. Рыбы бассейна Амура. М.: Изд-во АН СССР, 551с
4. Правдин. И.Ф. Руководство по изучению рыб. Изд. 4-е доп. М.: Пищев. пром., 1966. 376 с.
5. Самые опасные инвазионные виды России (ТОП-100) / Ред. Ю.Ю. Дгебуадзе, В.Г. Петросян, Л.А. Хляп. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2018. 688 с.
6. Юлдашов, М. А. Результаты интродукций чужеродных видов рыб в водоемы Узбекистана / М. А. Юлдашов, Б. Г. Камилов // Научные труды Дальрыбвтуза. – 2018. – Т. 44, № 1. – С. 40-48.
7. Burton, T. & Metcalfe, N.B. (2014) Can environmental conditions experiences in early life influence future generations? Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 281, 20140311.
8. Uller, T. (2008) Developmental plasticity and the evolution of parental effects. Trends in Ecology & Evolution, 23, 432–438.

Видовой состав и динамика численности веслоногих ракообразных (Copepoda) пресного озера вблизи пос. Апапельгино

А.П. Бывальцев

ПГНИУ

Научный руководитель – к.б.н. *А.Б. Крашенинников*, ПГНИУ

Аннотация: Веслоногие раки (Copepoda) – это мелкие, большей частью планктонные рачки, которые живут как в пресных водах, так и в морях, нередко составляя существенную часть планктона. Изучение которого является особенно важным в Арктических регионах. Исследование проходило вблизи пос. Апапельгино который находится на побережье Восточно-Сибирского моря в дельте р. Апапельгин (Чукотский АО) с 29 мая по 11 июля. Всего было собрано 7 количественных проб, в которых веслоногие ракообразные представлены 3 отрядами: Cyclopoidea, Calanoidae, Harpacticoidae – и 10 видами: *Cyclops furcifer*, *Cyclops sibirica*, *Megacyclops viridis*, *Diacyclops bisetosus*, *Heterocope borealis*, *Diaptomus glacialis*, *Hesperodiaptomus arcticus*, *Arctodiaptomus bacillifer*, *Bryocamptus krohini*, *Bryocamptus minutus*.

Ключевые слова: зоопланктон, Copepoda, западная Чукотка.

Планктон – это организмы живущие и свободно дрейфующие в толще воды, не способные сопротивляться течению. [3] Веслоногие раки (Copepoda) – это мелкие, большей частью планктонные рачки, которые живут как в пресных водах, так и в морях, нередко составляя существенную часть планктона. Изученность внутренних водоемов высоких широт носит фрагментарный характер, данные о фаунах беспозвоночных, населяющих отдельные арктические регионы и острова зачастую полностью отсутствуют или представлены только по отдельным группам организмов наиболее крупных озер и рек.[2] Мониторинг состояния сообществ беспозвоночных, населяющих высокоширотные водоемы, является одним из наиболее приоритетных направлений арктических исследований в рамках наблюдений за глобальными изменениями климата и таянием ледников. [4]

Цель данной работы: изучить видовой состав и численность веслоногих ракообразных (Copepoda) в пресном озере вблизи поселка Апапельгино

Материалы и методы: работа проходила вблизи пос. Апапельгино который находится на побережье Восточно-Сибирского моря в дельте р. Апапельгин (Чукотский АО). Начиная с 29 мая по 11 июля 2022 года было отобрано 7 количественных проб из пресного озера (69.79835° С.Ш., 170.64018° В.Д), с периодичностью 7-8 дней, а именно: 29мая; 6,13,20,27 июня; 4 и 11июля. Пробы отбирались при помощи планктонной сети, из которых каждая фиксировалась 96% спиртом. Количественные пробы полностью разбирали в камере Богорова [1].

В пробах, собранных с 29 мая по 11 июля 2022 года в пресном озере в районе посёлка Апапельгино, было обнаружено 10 видов из 3 отрядов Copepoda. Представители отряда Cyclopiformes: *Cyclops furcifer*, *Cyclops sibirica*, *Megacyclops viridis*, *Diacyclops bisetosus*. Представители отряда Calaniformes: *Heterocope borealis*, *Diatomus glacialis*, *Hesperodiatomus arcticus*, *Arctodiatomus bacillifer*. И представители отряда Harpacticiformes: *Bryocamptus krohini*, *Bryocamptus minutus*. Основную часть планктона составляли ракообразные отряда Calaniformes, на втором месте Cyclopiformes, а виды отряда Harpacticiformes попались лишь в единичных экземплярах 6 июня и 4 июля, которые в свою очередь относятся к мейобентосу. На рис.1. и представлена динамика численности веслоногих ракообразных.

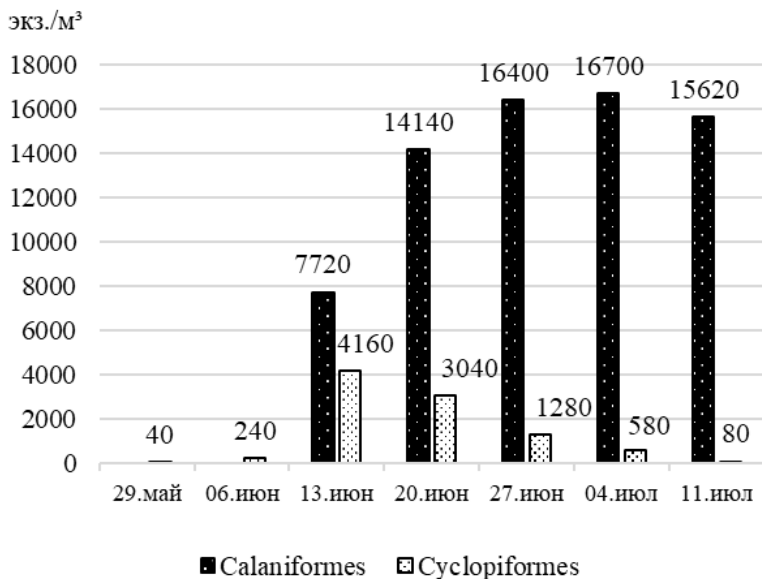


Рис. 1. Сезонная динамика численности Copepoda.

Библиографический список

1. Богоров В.Г. 1927. К методике обработки планктона // Русский гидробиологический журнал. Т. 6(8–10). С. 193–198.).
2. Новичкова А.А. 2015. Микроракообразные (cladocera, copepoda) внутренних водоемов арктических островов и закономерности их распределения в высоких широтах// дис...канд. биологич наук.- М.-с 172
3. Ширшов П.П. 1982. Планктон арктических вод; Избранные труды. М.: Наука, – 256 с
4. J. M. Culp, W. Goedkoop, J. Lento, K.S.Christoffersen, S. Frenzel, G. Gubergsson, P. Liljaniemi, S. Sand, y, M. Svoboda, J. Brittain, J. Hammar, D. Jacobsen, B. Jones, C. Juillet, M. Kahlert, K. Kidd, E. Luiker, J. Olafsson, M. Power, M.Rautio, A. Ritcey, R. Striegl, M. Svenning, J. Sweetman, M. Whitman 2012. // The Arctic Freshwater Biodiversity Monitoring Plan // CAFF International Secretariat, CAFF Monitoring Series Report. — Akureyri : CAFF International Secretariat, № 7.

Бюджет энергии северных морских котиков *Callorhinus ursinus* в условиях Ижевского зоопарка

Ю.В. Вяткина

ПГНИУ

Научный руководитель – канд. биол. наук **Н.В. Костицына**, ПГНИУ

Аннотация. На основании данных, полученных на территории государственного зоологического парка Удмуртии «Зоопарк», были выявлены особенности затрат энергии и основные паттерны поведения ластоногих.

Ключевые слова: Морские котики, затраты энергии, условия неволи.

Введение. Морских млекопитающих традиционно рассматривают как важный элемент морских экосистем. С развитием науки акцент сместился на изучение и сохранение видов этих уникальных животных. В современных зоопарках содержат и размножают представителей морских млекопитающих, уделяя большое внимание этическим проблемам, поддержанию нормального психического здоровья ластоногих, комфортному проживанию в условиях неволи. Там животные сталкиваются с ограничением ресурсов времени и энергии, что ведёт к необратимым последствиям [5]. С этой точки зрения исследование социальных связей и бюджета энергии морских млекопитающих позволит воссоздать необходимые условия, обеспечивающие снижение действия стрессовых ситуаций, оптимизацию процессов приручения и обучения ластоногих [1].

Материалы и методы. Данная работа посвящена изучению поведения и биоэнергетики северных морских котиков в условиях неволи. Исследование проводили с 9 по 15 января 2023года. Средняя уличная температура -21° С, средняя температура воды $+11^{\circ}$ С. Из-за погодных условий животные находились на улице 4 дня с 9:00 до 16:00. При температуре меньше -15° С ластоногих на улице не выпускают (ласты прилипают к металлическим поверхностям). Кормление экспонируемых котиков производят 2 раза в день, а дрессированных – 4 раза в день во время тренировок [4].

Живые наблюдения проводили с 8:00 до 17:00, остальные часы просматривали в записи видеокamer из вольеров. Во время наблюдений хронометрировали поведение особей, заполняя таблицу суточной активности. По этим данным рассчитывали бюджеты времени и энергии.

Опираясь на работы Дольника В. Р. и Журида Б.А., мы вывели формулу для расчёта бюджета энергии котиков [2, 3]:

$$I(100\%) = E(15\%) + CDD(8\%) + G(4\%) + M(73\%), \text{ где}$$

I – энергия, поступающая с пищей;

E – энергия продуктов дефекации и уринации;

CDD – прирост теплоты;

G – энергия, потраченная на рост;

M – энергия основного, активного и пищевого обмена.

При расчетах использовали поправочный коэффициент, вычисленный с учетом всех затрат энергии отдельных животных за два месяца.

Результаты и обсуждение. Для исследования была выбрана группа из 12 морских котиков разного пола и возраста. Анализируя полученные данные, мы вычислили бюджет времени северных морских котиков, находящихся в условиях неволи. Далее, опираясь на эти исследования, рассчитали бюджет энергии этих ластоногих, содержащихся в Ижевском зоопарке в зимний период.

В результате проведенных наблюдений была выявлена отрицательная зависимость калорийности рациона и затрат энергии животных от массы их тела, что отображено на рисунках 1 и 2.

Данные графиков указывают на небольшое снижение калорийности рациона и затрат энергии в сутки с увеличением массы тела. Зависимость является статистически не достоверной, у котиков с возрастом практически не падает уровень обмена веществ, что можно связать с высокими затратами энергии в период наблюдений – зимний период.

Значительные отличия показателей разных животных могут быть связаны с тем, что некоторые самки систематически отказывались от утренних приёмов пищи, что, скорее, связано с индивидуальными особенностями этих особей. Так же несколько молодых особей оставались в уличном бассейне дольше, чем на сутки, и отказывались от еды, что приводило к отрицательным бюджетам энергии.

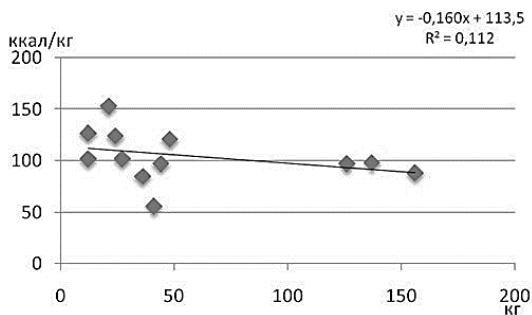


Рис.1. Графики зависимости калорийности рациона (ккал/кг в сутки) от массы тела; линией показаны тенденции изменения показателей.

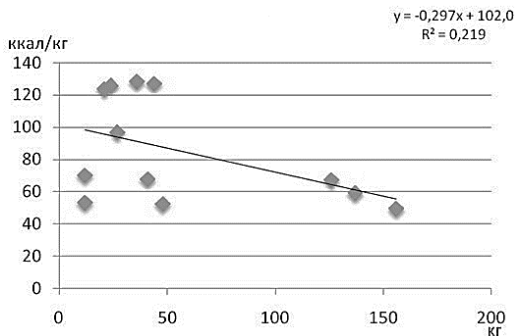


Рис.2. График зависимости затрат энергии (ккал/кг в сутки) от массы тела; линией показаны тенденции изменения показателей.

Выводы

1. Наблюдается слабая отрицательная зависимость калорийности рациона котиков при зимнем содержании в условиях зоопарка (ккал/кг в сутки) от массы их тела, зависимость статистически не достоверна.

2. Затраты энергии при зимнем содержании в Ижевском зоопарке (ккал/кг в сутки) с увеличением массы тела у *Callorhinus ursinus* снижаются, при этом зависимость между данными параметрами также не достоверна.

Библиографический список

1. Винобер А.В. Доместикация байкальской нерпы: возможный вариант решения проблемы // Коэволюция и ноосфера: исследования, аналитика, прогнозирование. 2017. № 2. С.154 – 168.
2. Дольник В.Р. Изучение поведения животных с помощью анализа их бюджетов времени и энергии // Русский орнитологический журнал. 2004. № 249. С. 22 – 32.
3. Журид Б.А., Верижникова С.А. Кормление морских млекопитающих в океанариуме / Севастополь: Изд-во Акварин, 2000. 368 с.
4. Моржи и морские котики в зоопарке Удмуртии / Рубцов Ю.А. [и др.]. Ижевск, 2014. 234 с.
5. Mugaas J. N., King J. R. Annual variation of daily energy expenditure by the black-billed magpie: a study of thermal and behavioral energetic // Studies in Avian Biology No. 5. 1981. 78 p.

Оценка качества воды верхнего течения реки Лозьвы по биологическим показателям

Т.В. Ермакова, Н.Н. Паньков
ПГНИУ

Аннотация. В составе донной фауны верхнего течения Лозьвы зарегистрировано 42 вида и формы. Численность и биомасса зообентоценозов изменялись в пределах 418-4200 экз./м² и 0,21-4,50 г/м² соответственно. Качество воды оценивалось по четырем индексам: Шеннона, Вудивисса, Гуднайта-Уитли и Кинга и Болла. Вода характеризуется как чистая и умеренно загрязнённая.

Ключевые слова: Лозьва, зообентос, качество воды

Лозьва – горная река длиной 637 км, стекающая с восточного склона хребта Поясовый Камень (Северный Урал). Сливаясь с Сосьвой, Лозьва даёт начало р. Тавде – притоку Тобола. Верхнее течение Лозьвы находится в труднодоступной и малонаселённой местности. Не испытывая заметного антропогенного воздействия, Лозьва находится в состоянии, близком к естественному, и может служить эталоном природных вод.

Цель работы – оценка качества воды верхнего течения реки Лозьвы.

Материалы и методы

Пробы зообентоса р. Лозьвы отбирались в конце августа 2022 года при помощи гидробиологического скребка или методом Шредера-Жадина. Материал фиксировался 75 % этиловым спиртом. Его обработка производилась по стандартной методике [1]. Животные идентифицировались при помощи определителей [2-5]. Сложность структуры донных сообществ оценивали при помощи информационного индекса Шеннона [6]. Сходство таксономического состава зообентоценозов оценивалось с использованием индекса Сёренсена. Для оценки качества вод применяли индексы Вудивисса, Гуднайта-Уитли, Кинга и Болла [7-9]

Результаты и обсуждение

В составе зообентоса верхнего течения Лозьвы зарегистрировано 42 вида и формы. Наиболее разнообразно представлены насекомые – 35 видов и форм. Моллюски представлены 3 видами и формами. Наряду с ними найдены представители ракушковых рачков Ostracoda, водяных клещей Hydracarina, малощетинковых червей Oligochaeta и нематод Nematoda.

На основании различий в биотопической основе, таксономической структуре и уровне развития выделено 4 типа зообентоценозов. Степень сходства таксономического состава сообществ изменялась от 0,15 до 0,30, что говорит о их довольно высокой специфичности.

Ядро альголитофильного сообщества формируют личинки жуков Elmidae. К субдоминантам относятся личинки поденок *Ephemerella ignita*, ручейников *Brachycentrus subnubilus*, веснянок *Taeniopteryx nebulosa*, комаров-звонцов Chironomidae и жуков Haliplidae. Биомасса зообентоценоза составляет 0,21 г/м² при численности 418 экз./м² (таблица 1).

Таблица 1
Численность (экз./м²), биомасса (г/м²), индексы Шеннона, Вудивисса, Гуднайта-Уитли и Кинга и Болла сообществ верхнего течения р. Лозьвы

Параметр	Сообщество*			
	1	2	3	4
Биомасса	0,21	4,50	0,30	1,48
Численность	418	3560	963	4200
Индекс Шеннона	2,39	2,40	2,47	2,42
Индекс Вудивисса	8	8	8	8
Индекс Гуднайта-Уитли	0	0,40	15	10
Индекс Кинга и Болла	∞	4500	30	7,40

*примечание: 1 – альголитофильное, 2 – фитолиитофильное, 3 – литофильное, 4 – псаммофильное.

В фитолиитофильном сообществе доминируют личинки ручейников *Arctopsyche ladogensis*. Им сопутствуют ручейники *Polycentropus flavomaculatus*, личинки комаров-болотниц Limoniidae, бекасниц *Atherix ibis*, а также жесткокрылых Elmidae и Haliplidae. Биомасса сообщества составляет 4,5 г/м² при численности 3,56 экз./м².

Ядро литофильного сообщества составляют личинки жуков Haliplidae. Группу субдоминантов составляют личинки веснянок *Leuctra fusca*, поденок *Caenis macrura*, *Leptophlebia submarginata*, комаров-звонцов Chironomidae, жуков Elmidae и малощетинковые черви Oligochaeta. Численность сообщества составляет 963 экз./м² при массе 0,3 г/м².

К доминантам псаммофильного сообщества относятся малощетинковые черви Oligochaeta. Субдоминантный компонент представлен личинками поденок *Heptagenia coeruleans*, ручейников *B. subnubilus* и

Lepidostoma hirtum, веснянок *Diura bicaudata* и *L. fusca*, комаров-звонцов Chironomidae, комаров-долгоножек Tipulidae, жуков Haliplidae. Биомасса сообщества составляет 1,48 г/м² при численности 4,20 экз./м².

Присутствие в составе зообентоса р. Лозьвы чувствительных к загрязнению личинок поденок, ручейников и, особенно, веснянок говорит о хорошем состоянии реки. Это подтверждается и значениями индексов Вудивисса, Гуднайта-Уитли и Кинга и Болла. Согласно индексу Шеннона, воды Лозьвы соответствуют классу умеренно загрязненных. По-видимому, это связано с тем, что грунты р. Лозьвы, как биотоп зообентоса, представляют собой слабоструктурированную среду, обуславливающую формирование сообществ с упрощенной структурой.

Выводы

В составе донной фауны верхнего течения Лозьвы зарегистрировано 42 вида и формы. Численность и биомасса зообентоценозов изменялись в пределах 418-4200 экз./м² и 0,21-4,50 г/м² соответственно. Качество воды оценивалось по четырем индексам: Шеннона, Вудивисса, Гуднайта-Уитли и Кинга и Болла. Вода характеризуется как чистая и умеренно загрязнённая.

Библиографический список

1. Методика изучения биогеоценозов внутренних водоемов / Под ред. Ф.Д. Мордухай-Болтовского. М.: Наука, 1975. 240 с.
2. Жильцова Л.А., Тесленко В.А. Веснянки Plesoptera // Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. СПб., 1997. Т. 3. Паукообразные. Низшие насекомые. С. 247 – 264.
3. Иванов В.Д., Григоренко В.Н., Арефина Т.И. Trichoptera ручейники // Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. СПб., 2001. Т. 5. Высшие насекомые. С. 7 – 72.
4. Клюге Н.Ю. Поденки (Ephemeroptera) // Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. СПб., 1997. Т. 3. Паукообразные. Низшие насекомые. С. 175 – 220.
5. Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР (планктон и бентос) / под ред. Л.А. Кутиковой и Я.И. Старобогатова. Л.: Гидрометеиздат, 1977. 510 с.
6. Shannon C.E. The mathematical theory of communication // Bell Syst. Techn. J. 1948. V. 27. PP. 379-423, 623-656.
7. Woodiwiss F.S. The biological system of stream classification used by the Trent River Authority // Chemistry and Industry. 1964. PP. 443–447.
8. Goodnight C.J., Whitley L.S. Oligochaetes as indicators of pollution // Proc. 15th Ind. Waste Conf., Pardue Univ. Ext. Sec? 1961. V. 106. PP. 139–142.
9. King D.I., Ball R.S. A quantitative biological measure stream pollution // J. Water Pollution Control Federation. 1964. V. 36. № 5. PP. 650–653.

Видовой состав и структура населения дневных чешуекрылых заказника Предуралье

В.И. Жуланова, М.Я. Лямин
ПГНИУ

Аннотация. Выявлен видовой состав и структура населения дневных чешуекрылых заказника Предуралье. Доминировали представители семейства Satyridae. В суточной активности отмечено два пика с 10 до 11 часов и с 14 до 16 часов.

Ключевые слова: Чешуекрылые, структура населения, суточная динамика, заказник Предуралье.

Исследования проводились в период с 8 июня по 20 июля 2022 года на территории УНБ «Предуралье». В течение всего периода исследований дневных чешуекрылых собирались с помощью энтомологического сачка. Собранный материал раскладывался в конвертики, где подписаны дата, время, место сбора, температура воздуха в момент отлова, освещенность в момент отлова. Определение материала проводилось в лаборатории по справочникам-определителям чешуекрылых [1-6].

В результате проведенной работы было выявлено 23 вида (за исключением представителей семейства Lysanidae), из следующих семейств: Nymphalidae, Satyridae, Hesperidae, Pieridae, Papilionidae (Таблица).

Таблица
Видовой состав и структура населения дневных чешуекрылых
заказника Предуралье

Семейство /вид	Экз.	%, от общего числа экз.
Hesperidae	63	11,3
1. <i>Ochlodes sylvanus</i> Esper, 1777	61	10,9
2. <i>Pyrgus alveus</i> Hübner, 1803	2	0,3
Pieridae	54	9,7
3. <i>Aporia crataegi</i> Linnaeus, 1758	7	1,2
4. <i>Euchloe ausonia</i> Hübner, 1805	8	1,4
5. <i>Gonepteryx rhamni</i> Linnaeus, 1758	9	1,6
6. <i>Leptidia sinapis</i> Linnaeus, 1758	16	2,8
7. <i>Pieris brassicae</i> Linnaeus, 1758	12	2,1

8. <i>Pieris napi</i> Linnaeus, 1758	2	0,3
Lycaenidae	151	27,2
Nymphalidae	57	10,2
9. <i>Aglais io</i> Linnaeus, 1758	2	0,3
10. <i>Aglais urticae</i> Linnaeus, 1756	1	0,1
11. <i>Apatura ilia</i> Denis et Schiffermüller, 1775	2	0,3
12. <i>Argynnis paphia</i> Linnaeus, 1758	12	2,1
13. <i>Limenitis camilla</i> Linnaeus, 1764	27	4,8
14. <i>Melitaea athalia</i> Rottemburg, 1775	2	0,3
15. <i>Melitaea didyma</i> Esper, 1778	3	0,5
16. <i>Nymphalis antiopa</i> Linnaeus, 1758	2	0,3
17. <i>Polygonia c-album</i> Linnaeus, 1758	2	0,3
18. <i>Vanessa cardui</i> Linnaeus, 1758	4	0,7
Satyridae	228	41,0
19. <i>Aphantopus hyperantus</i> Linnaeus, 1758	27	4,8
20. <i>Erebia aethiops</i> Esper, 1777	162	29,1
21. <i>Maniola jurtina</i> Linnaeus, 1758	3	0,5
22. <i>Coenonympha glycerion</i> Borkhausen, 1788	36	6,4
Papilionidae	2	0,3
23. <i>Papilio machaon</i> Linnaeus, 1758	2	0,3

Как видно из таблицы, доминантами среди нимфалид были *Limenitis camilla*. Среди белянок (Pieridae) доминировали *Leptidea sinapis*. Из бархатниц доминировали *Erebia aethiops*. Из толстоголовок, подавляющее число особей приходилось на *Ochloides sylvanus*.

На рисунке 1 представлена качественная и количественная структура населения дневных чешуекрылых заказника Предуралье. Как видно из диаграммы, наиболее богато представлено семейство Nymphalidae (43,5% от общего числа видов). Данное семейство представлено 10 видами. Вторым по числу видов является семейство Pieridae (26,1%). В этом семействе нами отмечено 6 видов. Чуть меньше разнообразно представлено семейство Satyridae, на долю которого приходится 17,4 % от общего числа видов. Нами было отмечено 4 вида этого семейства. Семейство Hesperiiidae (8,7 %) представлено 2 видами. Из семейства Papilionidae (4,3 %) нами отмечен только 1 вид *Papilio machaon*.

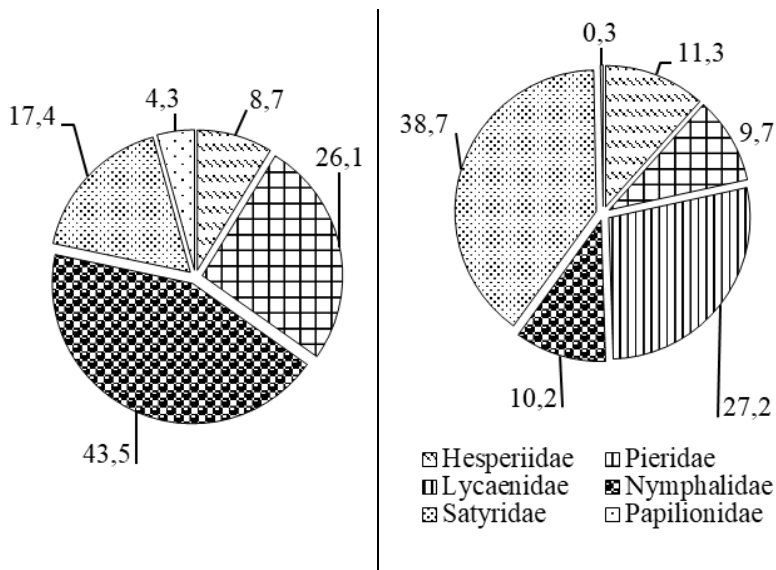


Рис. 1. Качественная и количественная структура населения дневных чешуекрылых заказника Предуралье (слева – % количества видов в семействе от общего числа видов (без Lycaenidae), справа – % количества экземпляров в семействе от общего числа экземпляров).

Говоря о количественных показателях структуры населения дневных чешуекрылых, стоит отметить следующие особенности, существенно отличающие ее от качественной структуры. Во-первых, численными доминантами были представители семейства Satyridae (38,7%). На долю белянок пришлось 27, 2%. Численность представителей оставшихся семейств была приблизительно одинаковой и составила 9-11%.

Также нами была выявлена суточная активность дневных чешуекрылых заказника Предуралье. Как видно из диаграммы активнее всех в этот день были Satyridae, также видно, что пики активность дневных чешуекрылых приходятся на интервалы времени с 10:00 до 11:00 и с 14:00 до 15:00.

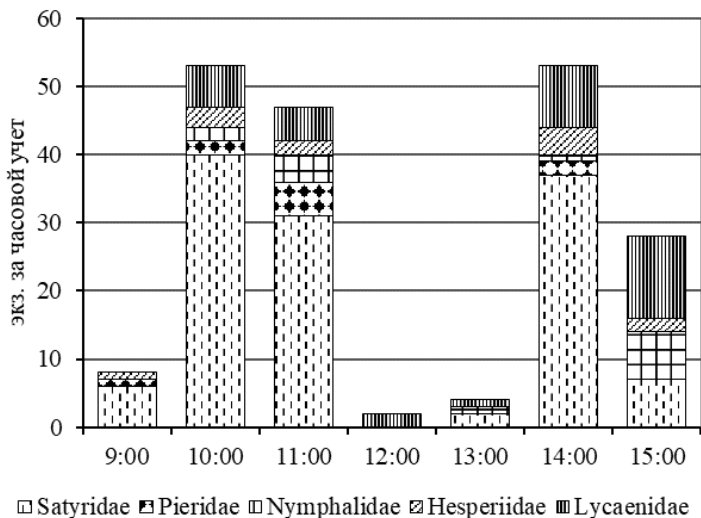


Рис. 2. Суточная активность дневных чешуекрылых заказника (18 июля 2022 года).

Библиографический список

1. Горбунов П.Ю., Олышванг В.Н. Бабочки Среднего Урала: Справочник-определитель. – Екатеринбург. из-во «Сократ», 2007. С. 352.
2. Горбунов П.Ю., Олышванг В.Н. Бабочки Южного Урала: Справочник-определитель. – Екатеринбург. из-во «Сократ», 2008. С. 416.
3. Коршунов Ю.П., Горбунов П.Ю., Дневные бабочки азиатской части России: Справочник. – Екатеринбург: Изд-во Урал ун-та, 1995. С. 202.
4. Мигранов М.Г., Булавоусые чешуекрылые Башкирии: Определитель// БНЦ УрО СССР. Уфа, 1991. С. 132.
5. Тагаринов А.Г., Долгин М.М., булавоусые чешуекрылые // Фауна европейского Северо-Востока Росии. Булавоусые чешуекрылые. СПб: Наука, Т.7, ч. 1, 1999. С. 183.
6. Bestimmungshilfe. – URL: https://lepiforum.de/lepiwiki_vgl.pl?Bestimmungshilfe (дата обращения: 12.09.2022).

Таксономический состав и структура населения перепончатокрылых-наездников заказника «Предуралье»

Д.А. Заморяхина

ПГНИУ

Научный руководитель – доцент *М. Я. Лямин*, ПГНИУ

Аннотация. В работе представлены данные о структуре населения наездников в заказнике «Предуралье». Получены данные о численности представителей 6 семейств (Ichneumonidae, Braconidae, Gasteruptiidae, Aphidiidae, Platigastridae и Paxilommatidae) и 1 надсемейства Chalcidoidea, в различных биотопах.

Ключевые слова: Наездники, биотопическое распределение, динамика численности, Ichneumonidae.

Целью работы было изучение таксономического состава и структуру населения перепончатокрылых наездников и особенностей их экологии. Для достижения цели были поставлены следующие задачи: определение структуры населения наездников в различных биотопах, изучение динамики численности наездников в исследуемых биотопах, выявление зависимости численности наездников в исследуемых биотопах от температуры воздуха и освещенности.

Исследование проводилось на территории комплексного ландшафтного заказника «Предуралье». Насекомые ловились при помощи энтомологического сачка (20 кошений в час) или вручную, после чего помещались в морилку. Затем наездники крупнее 5 мм выкладывались на ватные матрасики, а менее 5 мм помещались в пробирки с 70% спиртом. Сбор насекомых производился в разных биотопах: на опушке леса, пойменном лугу, суходольном лугу и на территории поселка. Наездники собирались 2 раза в день (до и после обеда), по 3-4 часа. Во время сбора два раза в час фиксировалась температура воздуха термометром и освещенность люксметром Ю-116. Наездники ловились на соцветиях зонтичных растений: купыре лесном, сныти обыкновенной, тмине обыкновенном, борщевике сибирском и др. Так же наездники попадались на разных видах клевера, васильке шероховатом и нивянике обыкновенном. За время сбора материала было поймано более 1100 экземпляров.

Определение производилось по определителям серии фауна СССР [2-5], а также по определителю отрядов и семейств насекомых фауны России [1].

Всего было отмечено 6 семейств (Ichneumonidae, Braconidae, Gasteruptiidae, Aphidiidae, Platigastridae и Paxilommatidae) и 1 надсемейство Chalcidoidea (Таблица 1).

Таблица 1

Семейство/ надсемейство	Количество экземпляров
Ichneumonidae	514
Надсемейство Chalcidoidea	433
Braconidae	123
Gasteruptiidae	22
Aphidiidae	16
Platigastridae	5
Paxilommatidae	1

В результате обработки материала выяснилось, что в разных биотопах структура населения наездников была различна. Наиболее богатым по количеству семейств оказался суходольный луг, а наиболее бедным пойменный луг (Рис. 1-2).

Заключение: Во всех исследованных биотопах преобладают семейства Ichneumonidae и Braconidae, а также надсемейство Chalcidoidea. В совокупности они составляют от 92,8% до 97,5% от общего числа представителей. Наиболее малочисленными оказались семейства Platigastridae и Paxilommatidae. Семейства Gasteruptiidae и Aphidiidae наиболее часто попадались в биотопе опушка леса, Platigastridae на территории поселка, а единственный представитель Paxilommatidae встретился на суходольном лугу.

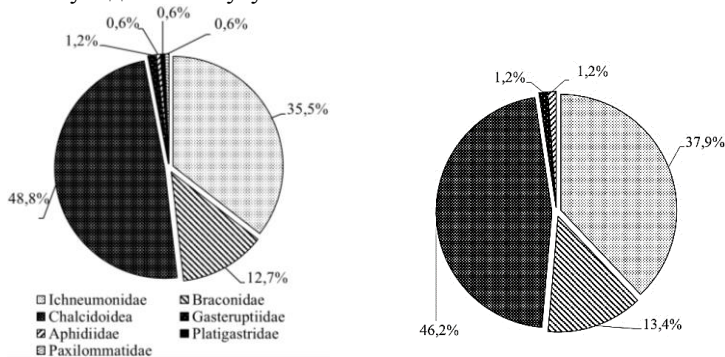


Рис. 1. Численность наездников из разных семейств в % (слева – на суходольном лугу; справа – на пойменном лугу).

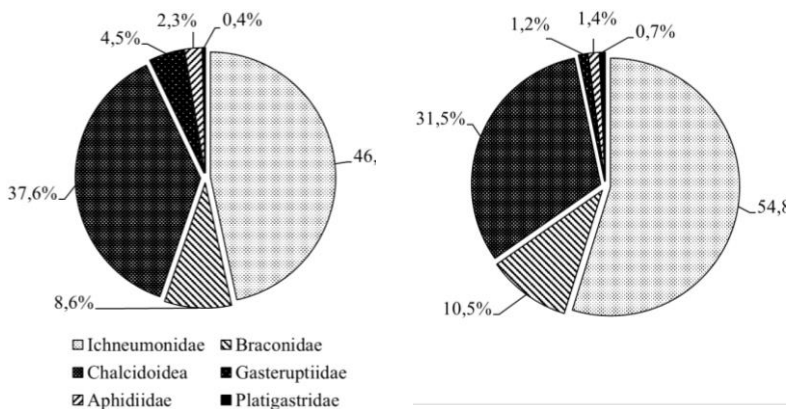


Рис. 2. Численность наездников из разных семейств в % (слева – на опушке леса; справа – на территории поселка).

Библиографический список

1. Горностаев Г. Н. Определитель отрядов и семейств насекомых фауны России. – М.: Издательская корпорация «Логос», 1999. – 176 с.: ил.
2. Определитель насекомых европейской части СССР. Т. 3. Перепончатокрылые. Вторая часть. Алексеев В. Н., Джанокмен К.А., Зерова М.Д., Козлов М.А., Костюков В.В., Никольская М.Н., Пономаренко Н.Г., Сорокина А.П., Сугоняев Е.С., Тряпицын В.А., Яснош В.А. Л., «Наука», 1978 С. 757.
3. Определитель насекомых европейской части СССР. Т. 3. Перепончатокрылые. Третья часть. Атанасов А.З., Йонайтис В.П., Каспарян Д.Р., Куслицкий В.С., Расницын А.П., Сийтан У.В., Толканиц В.И. (В серии: Определители по фауне, издаваемые Зоологическим институтом АН СССР. Вып 129). Л.: Наука, 1981. С. 688.
4. Определитель насекомых европейской части СССР. Т. 3. Перепончатокрылые. Четвертая часть Л.: Наука, 1986. – 509 с. – (Определители по фауне, издаваемые Зоологическим институтом АН СССР. Вып 145).
5. Определитель насекомых европейской части СССР. Т. 3/Перепончатокрылые; Пятая часть. В.И. Тобиас, А.Б. Якимавичус, И.Г. Кириак, – Л.: Наука, 1986. – 309 с. – (Определители по фауне, изд. Зоол. ин-том АН СССР. Вып 147).

Пресноводные моллюски позднего голоцена в отложениях долины р. Сырки

Г. Назаров, Н.Б. Овчанкова
ПГНИУ

Аннотация. Изученные малакокомплексы сформировались в позднем голоцене. В их составе идентифицировано 27 видов пресноводных моллюсков из пяти классов (Sphaeriidae, Lymnaeidae, Planorbidae, Valvatidae и Physidae), характерных для вод Пермского Прикамья. Большинство моллюсков тяготеют либо к постоянным слабопроточным или стоячим водным объектам, зарастающим, с признаками заболоченности; либо к временным, пересыхающим водоемам и болотам. На месте русла современной реки могли существовать серии временных или постоянных слабопроточных/стоячих водоемов, сильно зарастающих, с признаками заболачивания, что согласуется с морфолого-генетическими данными, полученными при изучении береговых обнажений пойменной террасы р. Сырка.

Ключевые слова: малакокомплексы, моллюски, голоцен.

Моллюски являются одной из наиболее широко распространённых и сложных для изучения групп гидробионтов, населяющих самые разнообразные места обитания: временные лужи, заболоченные почвы, моховые подушки, родники, ручьи, горячие источники, крупные реки, озёра и водохранилища [3].

Моллюски играют важную роль на разных уровнях функционирования пресноводных экосистем: от средообразующего действия крупных скоплений двустворчатых моллюсков до элементарного значения особей гастропод и бивальвий в трофических сетях, трансформации веществ и потоках энергии [3].

Велико биостратиграфическое значение ископаемых раковин моллюсков. По результатам изучения фауны ископаемых моллюсков в отложениях можно реконструировать палеогеоэкологическую обстановку обитания биоты, существовавшую на исследуемой территории в былые геологические эпохи. Знания видового состава ископаемых моллюсков, в свою очередь, могут позволить выявить возможные пути формирования современных малакофаун различных регионов в послеледниковый период [8].

Учитывая большое экосистемное и биостратиграфическое значение пресноводных моллюсков, актуальными являются задачи исследования

современных и ископаемых малакофаун отдельных регионов, без которого невозможно разрешение проблем систематики, биогеографии, фауногенеза, стратиграфии и экологии.

Полевой этап исследования проходил в Суксунском районе Пермского края на участке нижнего течения р. Сырки в августе 2020 г. и мае 2021 г. На этапе полевых исследований были описаны четыре обнажения пойменной террасы р. Сырка.

Сбор и обработка ископаемого малакологического материала проводились по общепринятым методикам [7, 8] путем непосредственного отбора раковин из предварительно зачищенных 2-го и 4-го обнажений пойменной террасы р. Сырки. Также применяли метод сухого просеивания фрагментов обнажений и промывки через сита с последующим извлечением раковин моллюсков из концентрата.

Помимо раковин моллюсков из аллювиальных отложений были собраны образцы торфа и древесины для последующего определения абсолютного и относительного возраста отложений методом радиоуглеродного датирования по ^{14}C . Образцы были переданы в РГПУ им. Герцена (г. Санкт-Петербург).

Определение видовой принадлежности моллюсков проводилось по признакам раковины с использованием определителей и отдельных статей [4, 2, 5].

Из аллювиальных отложений 2-го и 4-го разрезов пойменной террасы Сырки было просмотрено 1548 экземпляров раковин пресноводных моллюсков. Всего идентифицировано 27 видов, 18 из которых – брюхоногие (кл. *Gastropoda*), 9 – двустворчатые (кл. *Bivalvia*).

В изученных обнажениях присутствуют торфяные горизонты разной мощности и разных возрастов (от 5185 ± 100 до 4200 ± 100 ^{14}C лет в зависимости от глубины залегания). Таким образом, изученные малакокомплексы сформировались в позднем голоцене.

Брюхоногие моллюски представлены 4 семействами: *Lymnaeidae* (*Galba truncatula*, *Radix balthica*, *R. intermedia*, *R. lagotis*, *R. peregra*, *Stagnicola callomphala*, *S. palustris*), *Physidae* (*Aplexa hypnorum*), *Planorbidae* (*Bathyomphalus contortus*, *B. crassus*, *B. dispar*, *Gyraulus acronicus*, *G. albus*) и *Valvatidae* (*Valvata macrostoma*, *V. pulchella*, *V. ambigua*, *V. piscinalis*, *V. cristata*). Двустворчатые – представлены одним семейством *Sphaeriidae* (*Euglesa crassa*, *E. nitida*, *E. obtusale*, *E. scholtzii*, *E. casertana*, *E. subtruncata*, *E. turgida*, *E. rosea*, *E. baudoniana*).

В целом, встреченные виды характерны для вод Пермского Прикамья. Однако, в составе малакокомплексов отсутствуют представители крупных двустворок семейства *Unionidae* и моллюски рода *Sphaerium*. Вероятно, это связано с условиями обитания, существовавшими на территории исследования 4-5 тыс. лет назад.

Все встреченные виды пресноводных моллюсков приурочены к разнообразным условиям обитания. Мы попытались обобщить экологические предпочтения [2, 4, 5] и выделили условно 5 групп видов, предпочитающих: преимущественно временные водоемы; заболоченные водоемы, озера, медленнотекущие ручьи, реки и каналы; постоянные водные объекты; постоянные непроточные водоемы; постоянные проточные водные объекты.

Во всех разрезах преобладающее большинство видов – жители постоянных водных объектов (речных, озерных, с разной скоростью течения и степенью зарастания). На втором месте идут виды, характерные преимущественно для временных водоемов. Это в основном все встреченные прудовиковые и один вид вальватид. Отдельного внимания здесь заслуживает амфибионтный вид – *Galba truncatula* – встречающийся в прибрежной зоне озёр, в зоне заплеска, а также в лужах, мочажинах, на сырых лугах. Далее следуют виды, существование которых возможно в условиях заболачивания и сильного зарастания водоемов. Некоторые из них служат индикаторами заболачивания. Это большая часть видов рода *Euglesa* и *Valvata pulchella*. Наконец, только для горизонтов 4го среза отмечены виды, предпочитающие либо постоянные непроточные, либо постоянные проточные водные объекты, их число незначительно. Таким образом, большинство обнаруженных пресноводных моллюсков тяготеют либо к постоянным слабопроточным или стоячим водным объектам, зарастающим, с признаками заболоченности; либо к временным, пересыхающим водоемам (заливные луга, каналы, мочажины) и болотам. Вероятно, на месте русла современной реки могли существовать серии временных или постоянных водоемов, слабопроточных или стоячих, сильно зарастающих, возможно, с признаками заболачивания.

Наша гипотеза согласуется с морфолого-генетическими данными, полученными при изучении береговых обнажений пойменной террасы р. Сырка [6]. В течение голоцена происходили климатические перемены (чередование периодов похолодания и потепления), что отразилось на морфологии отложений и флювиальной активности реки. В периоды потеплений флювиальная активность реки снижалась, шло зарастание водоемов и накопление растительных остатков. Отложения торфа являются индикатором низкой флювиальной активности реки [1]. Периодически в период торфообразования/торфонакопления происходил подъем уровня воды и затопление поверхности, о чем свидетельствует наличие прослоек выветренных карбонатных конкреций и известкового песка, особенно хорошо заметное в спрессованных торфяных отложениях нижней части 4-го разреза. Наличие слоя карбонатных конкреций указывает на резкое поднятие уровня вод/увеличение высоты паводка/выход на поверхность подземных рек, затопление территории.

Требуются дальнейшие исследования территории и акватории на предмет современных и ископаемых пресноводных и наземных моллюсков, и получение радиоуглеродных дат по некоторым слоям отложений.

Мы благодарим к.б.н., доцента кафедры физиологии растений и микроорганизмов биологического факультета ПГНИУ Москвину Н.В. за ценные консультации.

Библиографический список

1. Александровский А.Л. Этапы и скорость развития пойм рек Русской равнины // Почвоведение, 2004. № 11. С. 1285–1295.

2. Богатов В.В., Кияшко П.В. Двустворчатые моллюски // Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России. Т. 2. Зообентос / под ред. В.Р. Алексева и С.Я. Цалолихина. М–СПб: Товарищество научных изданий КМК, 2016. С. 285–334 с.

3. Кияшко П.В. Пресноводные моллюски Севера и Северо-Запада Европейской России // Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России. Т. 2. Зообентос / под ред. В.Р. Алексева и С.Я. Цалолихина. М–СПб: Товарищество научных изданий КМК, 2016. С. 279–284.

4. Кияшко П.В., Солдатенко Е.В., Винарский М.В. Брюхоногие моллюски // Определитель зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России. Т. 2. Зообентос / под ред. В.Р. Алексева и С.Я. Цалолихина. М–СПб: Товарищество научных изданий КМК, 2016. С. 335–438.

5. Корнюшин А.В. Двустворчатые моллюски надсемейства Pisidioidea Палеарктики. Киев, 1996. 175 с.

6. Низова О.Н. Морфолого-генетическая характеристика почв и отложений долины р. Сырка // Материалы международной научной конференции XXIV Докучаевские молодежные чтения «Почвоведение в цифровом обществе». – СПб., 2021. С. 57–59.

7. Осипова Е.М. Моллюски плейстоцена и голоцена Южноуральского региона. Автореф. дис. ... канд. геол.-минер. наук. Москва, 2009. 26 с.

8. Осипова Е.М., Данукалова Г.А. Малакологические комплексы позднего неоплейстоцена-голоцена из отложений пещер и гротов Южного Урала // Геологический вестник, 2021, №3. С. 76-99.

Взаимосвязь между содержанием гликогена в тканях и плодовитостью у травяной лягушки *Rana temporaria* в весенний период

А.С. Семухина

ПГНИУ

Научный руководитель – кандидат биологических наук, доцент

Н.А. Четанов, ПГНИУ

Аннотация. В данной работе была проверена возможная взаимосвязь между содержанием гликогена в яйцеклетках и плодовитостью травяной лягушки в весенний период. Взаимосвязи между этими параметрами обнаружено не было, но была установлена положительная корреляция между содержанием гликогена в печени и тканях мышц. Материал был собран в черте города Перми в период размножения лягушек перед непосредственно оплодотворением.

Ключевые слова: травяная лягушка, *Rana temporaria*, содержание гликогена

Травяная лягушка – широко распространенный вид. Она повсеместно распространена в Европе и до Урала и Зауралья в России. Северная граница ареала заходит на Скандинавский полуостров. Пермский край в ареале обитания травяной лягушки располагается ближе к его восточной границе [1]. Климат Пермского края умеренно-континентальный, средние значения температур зимой $-18,5^{\circ}\text{C}$ на северо-востоке и $-13,3^{\circ}\text{C}$ на юго-западе, летом $+16^{\circ}\text{C}$ и $+19,1^{\circ}\text{C}$ соответственно. Снежный покров держится около 170-190 дней в году [2]. Такие условия можно считать достаточно суровыми по сравнению со средними условиями обитания в границах ареала *Rana temporaria*.

Подготовка к зимовке у земноводных является важным процессом, без которого они не смогли бы выжить в столь суровых условиях. Этот процесс настолько сложен, что амфибии летнего и зимнего периодов отличаются морфологически и физиологически [3]. В летний период происходит так называемый нагул, во время которого лягушки интенсивно растут, восстанавливают энергетические запасы, а также формируют половые продукты. В осеннее время подготовка к зимовке завершается: в печени накапливается основное резервное вещество – гликоген, а гаметогенез должен быть полностью закончен или быть близок к завершению. Перед непосредственно размножением содержание глико-

гена очень низко, поскольку большая часть ресурсов потрачена на поддержание жизнедеятельности животного во время гипобиоза [1], однако на сам процесс размножения еще остаются ресурсы, т.к. само размножение очень ресурсозатратно. Именно поэтому для полноценного развития эмбрионов необходима энергия, которая и содержится в гликогене. Гликоген в организме лягушек депонируется в различных тканях и органах – это, в первую очередь, печень, мышцы, а у самок также яйцеклетки [4].

Плодовитость – это количество яйцеклеток в организме самки, которые в последствии станут икрой. Примечательно, что этот показатель не зависит от размеров тела особи [4].

В настоящей работе будет рассмотрена гипотеза о том, что репродуктивный потенциал травяных лягушек имеет взаимосвязь с содержанием гликогена в яйцеклетках. Исходя из описанной гипотезы, целью данной работы можно считать определение содержания гликогена в яйцеклетках и тканях травяной лягушки и выявление зависимости между содержанием гликогена и плодовитостью.

Материалы и методы

Перед размножением (26-27 апреля 2022 г.) было отловлено 30 самок травяных лягушек. Животные были отловлены из нерестовых водоемов при помощи сачка.

Исследование на содержание гликогена в тканях (печень, мышцы, яйцеклетки) проводили модифицированным *o*-толуидиновым методом [5, 6].

Затем исследовали пробы на спектрофотометре при длине волны 325 нм в кюветах объемом 3,090 мл. Отдельно готовились стандарты глюкозы, просматривались на спектрофотометре и на основании полученных значений строился калибровочный график, по которому определялось содержание гликогена.

Обработка данных и, в частности, определение корреляции Пирсона, проводилось при помощи Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Средние значения и ошибки среднего содержания гликогена в печени, мышцах и яйцеклетках следующие: 33,9±6,5 мг/ 1 г ткани, 3,1±0,5 мг/ 1 г ткани и 8,9±0,5 мг/ 1 г ткани соответственно. Среднее значение плодовитости – 1151,9±75,9 яйцеклеток в обоих яйцеводах.

Нами была сделана попытка определить взаимосвязь между содержанием гликогена и плодовитостью. Было выявлено, что корреляция между содержанием данного запасного вещества в яйцеклетках и плодовитостью крайне слабая, статистически недостоверная ($r = -0,02$; $p >$

0,05). Также мы проанализировали корреляцию между плодовитостью и содержанием гликогена в тканях печени ($r = 0,14$; $p > 0,05$) и скелетной мускулатуры ($r = 0,20$; $p > 0,05$). Это позволяет сделать вывод об относительной независимости числа образующихся яйцеклеток от количества запасаемых веществ.

Заодно были проверены другие возможные зависимости. Более значительную зависимость видно между содержанием гликогена в печени и в яйцеклетках. Между содержанием гликогена в печени и в мышцах выявлена положительная корреляция ($r=0,58$, $p < 0,05$).

Таким образом можно заметить, что репродуктивный потенциал особи практически не связан с количеством запасных веществ, а именно гликогена. А вот содержание гликогена в печени и в мышцах коррелируют, что может говорить о закономерном распределении запасного вещества между данными тканями.

Библиографический список

1. Кутенков А. П. Экология травяной лягушки (*Rana temporaria* L., 1758) на северо-западе России. Петрозаводск: Изд-во Петрозаводского гос. ун-та, 2009. 138 с.
2. Атлас Пермского края / под ред. Тартаковского А. М. Пермь: Перм. гос. нац. исслед. ун-т, 2012. 124 с.
3. Банников А. Г., Денисова М. Н. Очерки по биологии земноводных // М.: Учпедгиз, 1956. Т. 166.
4. Шварц С. С., Ищенко В.Г. Пути приспособления наземных позвоночных животных к условиям существования в Субарктике. Т. 3. Земноводные. Свердловск, 1971. 133 с.
5. Tárnoky K. et al. Spectrophotometric determination of glycogen with o-toluidine // *Clinica Chimica Acta*. 1963. Vol. 8. P. 627-628.
6. Северин С. Е., Соловьева Г. А. Практикум по биохимии./ М.: МГУ. 1989. Т. 125. 509 с.

Население пауков-герпетобионтов луговых и лесных биоценозов Кудымкарского района

А.Н. Третьякова

ПГНИУ

Научный руководитель – старший преподаватель *А.Б. Полянин*,

ПГНИУ

Аннотация. Сбор материала проведен в окрестностях деревни Корчевня, Кудымкарский муниципальный округ, Пермский край с 08.06 по 27.07 2022 г, на 6 типичных биотопах для Кудымкарского района. Для сбора материала использовались почвенные ловушки Барбера. Было произведено 15 серий на 6 площадках. В результате определения 1901 экземпляра пауков было выявлено 67 видов из 12 семейств. Среди них 62 новых вида для данного района, ранее не опубликованных. С учетом литературных данных, зональная фауна на данный момент составляет 76 известных видов. Наибольшим видовым богатством отличаются семейства Linyphiidae (25 видов) и Lycosidae (15 видов), Gnaphosidae (9 видов), Thomisidae (8 видов), Tetragnathidae (5 видов).

Ключевые слова: пауки, герпетобионты, структура населения.

Широкое географическое распространение, разнообразие жизненных форм, высокая численность и сложное поведение пауков привлекают интерес исследователей к этой своеобразной группе животных [1]. Пауки распространены по всему миру и завоевали все экологические ниши [2]. Только к фауне Урала выявлено 912 видов пауков, относящихся к 202 родам из 23 семейств [3]. Важным обобщением фаунистических исследований аранеофауны края стал выход «Каталога пауков Урала» [4]. В Пермском крае одними из наиболее изученных локалитетов являются ботанический сад ПГНИУ [5] и учебно-научная база «Предуралье» [6]. Но Кудымкарский район имеет лишь фрагментарные сведения о фауне пауков.

В результате определения 1901 экземпляра пауков было выявлено 67 видов из 12 семейств. Среди них 62 новых вида для данного района, ранее не опубликованных. И с учетом литературных данных, зональная фауна на данный момент составляет 76 известных видов.

Наибольшим видовым богатством отличаются семейства Linyphiidae (25 видов) и Lycosidae (15 видов), Gnaphosidae (9 видов), Thomisidae (8 видов), Tetragnathidae (5 видов).

Доминирующий комплекс исследованных биотопов
в разные феносезоны

Перволетье	Полное лето
Злаково-разнотравный луг	
<i>P. fulvipes</i> <i>P. palustris</i> <i>P. lugubris</i> <i>A. pulverulenta</i> <i>A. cuneata</i>	<i>P. fulvipes</i> <i>P. palustris</i> <i>P. lugubris</i> <i>D. nigrum</i>
Разнотравно-злаковый луг	
<i>P. fulvipes</i> <i>P. palustris</i> <i>P. lugubris</i>	<i>P. fulvipes</i> <i>P. palustris</i> <i>P. pullata</i>
Вырубка	
<i>P. lugubris</i>	<i>P. amentata</i> <i>P. fulvipes</i> <i>P. lugubris</i> <i>D. pusillus</i>
Ельник разнотравный	
<i>P. lugubris</i>	<i>P. lugubris</i> <i>D. picinus</i>
Зарастающая вырубка	
<i>P. lugubris</i> <i>P. hygrophilus</i>	-
Елово-березовый лес на месте вырубки	
<i>P. lugubris</i> <i>P. hygrophilus</i>	<i>P. lugubris</i>

Полужирным шрифтом выделены массовые виды.

Невыделенным шрифтом написаны обычные виды.

Наибольшим видовым богатством отличаются фауна злаково-разнотравного луга (29 видов), зарастающей вырубки – (22 вида) и разнотравно-злакового луга (20 видов). Несколько меньшее разнообразие видов на площадках елово-березового леса на месте вырубки (16 видов), вырубки (16 видов) и ельника разнотравного (12 видов).

В исследованиях населения был изучен доминирующий комплекс видов в разные феносезоны (таблица 1).

В результате анализа полученных данных мы видим, что из 67 видов пауков, зарегистрированных в герпетобии Кудымкарского района,

только 10 можно отнести к доминирующему комплексу. Следует отметить, что только 3 из них на некоторых площадках являются массовыми, 4 – многочисленными, и 6 обычными.

На двух разных лугах доминирующий комплекс видов несколько отличается. Злаково-разнотравный луг имеет 5 видов в первоцветье, и 4 в полное лето. Количество самцов уменьшилось в первоцветье, и вид перешел из массового в многочисленные. Разнотравно-злаковый луг имеет в обе фазы по 3 доминирующих вида. *Pardosa fulvipes* остается массовым видом в обе фазы. В полное лето вид *Pardosa palustris* переходит в массовый из-за резкого роста количества самцов.

Структура доминирующего комплекса видов зарастающей вырубki включает 2 вида. В полное лето доминирующих видов не осталось.

Библиографический список

1. В.П., Тыщенко. Определитель пауков европейской части СССР. Ленинград: Издательство "Наука". 1971.

2. Foelix, R. F. Biology of spiders. "Oxford University Press". 2011. 419 с.

3. С.Л., Есюнин. Фауна пауков (Aranei) Урала: разнообразие, структура, типизация. Ростов-на-Дону. 2015. 257 с.

4. Есюнин С.Л., Ефимик Е. В. Каталог пауков (Arachnida, Aranei) Урала. 1996.

5. Есюнин С. Л., Плакхина Е. В. Структура населения пауков (Arachnida, Araneae) некультивируемой растительности Ботанического сада Пермского государственного национального исследовательского университета // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2022. Вып. 4. С. 267–279.

6. Есюнин С. Л., Полянин А. Б., Власов П. И., Шулаева Е. А. Фауна пауков учебно-научной базы "Предуралье" (Пермский край): 40 лет исследований // Вестник Пермского университета. 2011. С. 16-23.

О росте раковины перловицы обыкновенной *Unio pictorum* (Linnaeus, 1758) в некоторых водотоках Пермского края

П.С. Чурбакова, Н. Н. Паньков
ПГНИУ

Аннотация. Изучены зависимости длины раковины от возраста, высоты раковины от длины и вес раковины от длины у перловицы обыкновенной *Unio pictorum* из Очёра, Сылвы и Ирени (Пермский край). Изменчивость всех конхиологических признаков оказалась высокой. Зависимость длины раковины от возраста описывается уравнением логарифмической функции при крайне низком качестве модели. Зависимость высоты раковины от длины описывается уравнением линейной функции при удовлетворительном качестве модели. Зависимость веса раковины от её длины описывается уравнением показательной функции при очень хорошем качестве модели.

Ключевые слова: Перловица обыкновенная, рост раковины, Пермский край.

Перловица обыкновенная, или речная, *Unio pictorum* (Linnaeus, 1758) – широко распространённый в Европе вид крупных двустворчатых моллюсков из семейства перловицевых Unionidae [1]. Эти животные являются постоянным компонентом донной фауны рек, озёр и водохранилищ. Составляя значительную часть биомассы зообентоценозов, они играют большую роль в трофодинамических процессах, протекающих в пресноводных экосистемах. Будучи фильтраторами, они осаждают взвешенные органические вещества, которые, входя в состав донных отложений, повышают питательную ценность грунта для других гидробионтов [2]. При этом, очищение толщи воды от взвесей благоприятно сказывается на условиях освещённости в пелагиали и бентали. Известно паразитарное значение перловицы обыкновенной, чьи глосидии заражают многие виды рыб и наносят определённый ущерб их популяциям [3]. Сами перловицы служат промежуточными хозяевами для некоторых трематод.

Оценка участия *U. pictorum* в функционировании пресноводных экосистем требует изучения основных закономерностей их роста. Однако, несмотря на актуальность этой задачи, публикаций в данной области сравнительно немного [4].

Материалом для настоящей работы послужили раковины *U. pictorum* (коллекция Н.Н. Панькова и Н.Ю. Шадрина, кафедры зоологии беспозвоночных и водной экологии ПГНИУ), отобранных в среднем течении р. Сылвы (1995 г.), нижнем течении Очёра (1997 и 1999 г.) и на всём протяжении р. Ирень, кроме самых верховий (2000 г.). Очищенные от остатков мягких тканей, промытые и высушенные на воздухе створки раковин измерялись при помощи штангенциркуля с точностью до одного миллиметра (схема промеров приведена на рис. 1) и взвешивались на электронных весах с точностью до 0,01 г. Всего обработано 487 изолированных створок раковин.

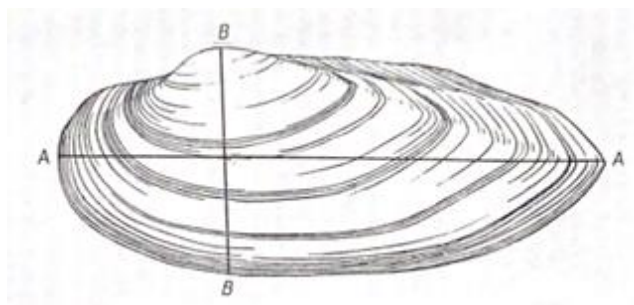


Рис. 1. Схема промеров раковины *U. pictorum* (левая створка). Линия AA – длина; линия BB – высота.

Статистическая обработка материала проводилась в программных пакетах Advanced Grapher Version 2.2 и Microsoft Office Excel 2010. При расчёте стандартной ошибки средней арифметической уровень значимости принимался равным 0.05. Достоверность различий оценивалась с помощью парного t-критерия Стьюдента. Для оценки правомочности применения параметрических методов выборки проверялись на нормальность распределения. При расчёте уравнений регрессии и построении графиков в качестве критерия качества модели использовался коэффициент детерминации R^2 .

Анализ материала позволил установить, что изменчивость всех изученных конхиологических признаков *U. pictorum* очень велика. Это согласуется с литературными данными, свидетельствующими о большой пластичности параметров раковин семейства Unionidae [3, 4, 5]. В связи с широким перекрытием границ доверительных интервалов одновозрастных особей популяций *U. pictorum* из всех трёх водотоков не удалось выявить статистически значимых различий в параметрах створок их раковин и определить различия в скорости их линейного и весового

роста. Из-за этого, все дальнейшие расчёты проводились на основе обобщённой выборки.

Изучение зависимости длины раковины от возраста показало, что эмпирические данные наиболее точно описываются уравнением логарифмической функции:

$$L=18.52\text{Ln}(T)+37.56$$

Где L – длина раковины (мм); T – возраст (лет).

Однако качество этой модели крайне невелико ($R^2=0.27$). Мы полагаем, что это связано не только с высокой изменчивостью длины раковины одновозрастных особей, что приводит к широкому перекрытию доверительных интервалов, но и особенностями выборки, в которой преобладали особи возрастом 5-8 лет, когда скорость линейного роста сильно замедляется, так что средние показатели длины разновозрастных когорт различаются незначительно.

Преобладание особей старших возрастов в выборке объясняется тем, что сифоны более молодых и меньших по размеру особей труднее разглядеть между камнями.

Изучение зависимости высоты раковины от её длины (и, косвенно, от возраста) показало, что связь этих параметров наиболее точно аппроксимируется уравнением линейной функции:

$$h=0.11L+2.2$$

Где h – высота раковины (мм); L – её длина. Качество модели удовлетворительное ($R^2=0.51$). Это свидетельствует о том, что, при всей изменчивости линейных параметров раковины, в процессе роста её пропорции остаются более или менее постоянными.

Изучение зависимости веса раковины от её длины показало, что связь этих параметров наиболее точно аппроксимируется уравнением показательной функции:

$$W=506.30(1.04^L)$$

Где W – вес раковины (мг); L – её длина (мм). Качество модели очень хорошее ($R^2=0.83$).

Изучение закономерностей роста перловицы обыкновенной в условиях Пермского края далеко от своего завершения и требует своего продолжения.

Библиографический список

1. Старобогатов Я.И., Прозорова Л.А., Богатов В.В., Саенко Е.М. Моллюски // Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий. СПб.: Наука, 2004. Т. 6. Моллюски, Полихеты, Немертины. С. 9-492.
2. Алимов А.Ф. Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков. Л.: Наука, 1981. 248 с.
3. Жадин В.И. Семейство Unionidae // Фауна СССР. Моллюски. М., Л.: Изд-во АН СССР, 1938. Т. 4. Вып. 1.: IX. 170 с.
4. Рижинашвили А.Л. Количественные характеристики абсолютного роста перловиц (*Bivalvia*, *Unionidae*) в различных водоёмах европейской части России // Вестник Санкт-Петербургского ун-та, 2008. Серия 3. Вып. 2. С. 3-14.
5. Скворцов В.В., Марданова Н.Р. Изучение скорости роста двустворчатых моллюсков *Unio pictorum* (Linnaeus, 1758) из р. Оредеж (Ленинградская область) в связи с межгодовой изменчивостью метеорологических показателей // Функция, морфология, экология и жизненные циклы животных, 2016. Т. 16. № 1. С 31-48.

Суточная активность северного морского котика *Callorhinus ursinus* в условиях Ижевского зоопарка

Шешукова Е.Д.

ПГНИУ

Научный руководитель – канд. биол. наук, **Н.В. Костицына**, ПГНИУ

Аннотация: В ходе проведённых исследований в Ижевском зоопарке была выявлена суточная активность северного морского котика в зимних и летних условиях.

Ключевые слова: Ижевский зоопарк, северный морской котик, суточная активность.

Введение. Северные морские котики являются частыми обитателями зоопарков и океанариумов. Их легко дрессировать для демонстрации посетителям зоопарков, а также для удовлетворения интеллектуальных и физических потребностей самих животных [3]. В Ижевский зоопарк котики привезены с Утришской морской станции [1]. Ежегодно котики приносят потомство, что подтверждает наличие благоприятных условий содержания ластоногих. Летом, в период размножения, внутри зоопарка формируют 3 группы гаремных самцов – секачей, учитывая

взаимодействия между животными в прошлом году, зимой животных содержат вместе [5]. Дрессируемые и экспонируемые животные всегда находятся в одной группе. Наблюдения за котиками проводили в течение двух сезонов: летом по 13 часов, зимой – 9 часов в сутки. Фиксировали все формы поведения ластоногих, также отмечали время наблюдения в двух различных помещениях для содержания (во внутреннем боксе, внешнем вольере) [4]. Активность котиков при разных формах поведения оценивали по пятибалльной шкале.

Цель исследования – рассмотреть суточную активность северного морского котика *Callorhinus ursinus* в условиях Ижевского зоопарка.

Задачи – рассмотреть активность котиков в открытых вольерах и закрытых боксах в летний и зимний периоды.

Результаты и обсуждение

На рисунках 1 и 2 представлена дневная активность дрессируемых и экспонируемых котиков в разных условиях содержания (зимой, летом, в открытых и закрытых вольерах).

В открытых вольерах как зимой, так и летом дрессируемых животных кормили при дрессировке и вне ее четыре раза в день, все пики активности ластоногих (темная линия на рисунках 1А и 2А) совпадают с процессом кормления и дрессировки. Экспонируемых животных кормят два раза в день, но и у них при совместном содержании с дрессированными котиками в открытом вольере также наблюдается полифазная активность (темная линия на рисунках 1Б и 2Б).

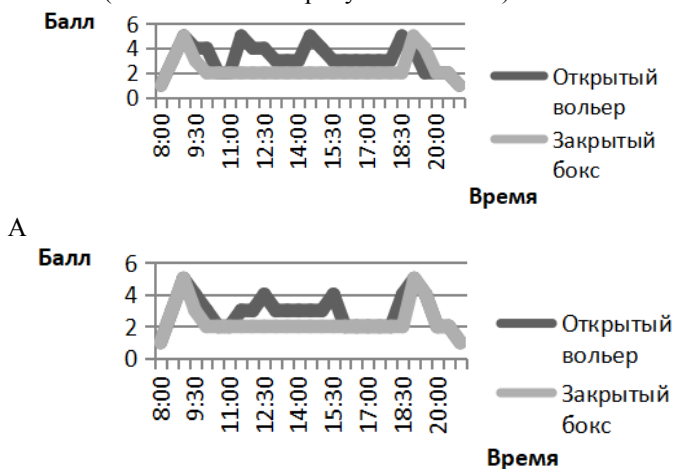


Рис. 1. Дневная активность дрессируемых (А) и экспонируемых (Б) котиков в летний период (в баллах)

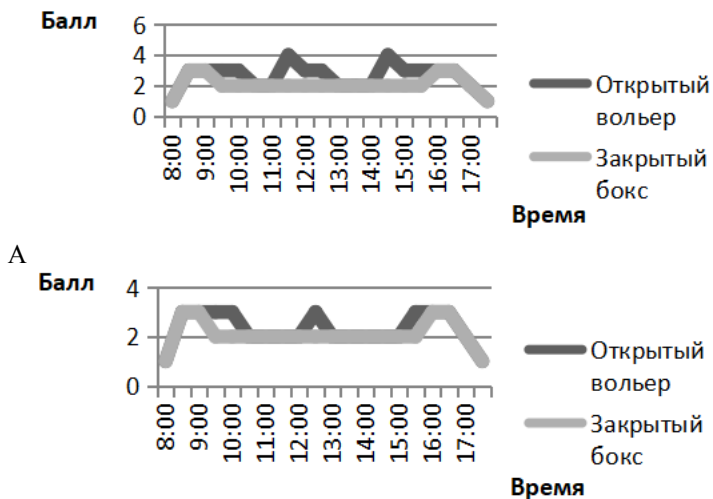


Рис. 2. Дневная активность дрессируемых (А) и экспонируемых (Б) котиков в зимний период (в баллах)

В закрытых боксах и дрессируемых и экспонируемых котиков кормят два раза в сутки, пики активности (светлая линия на рисунках) совпадают с периодами кормления. Триггером к повышению активности у всех животных является не только процесс их кормления, но и дрессировки и кормления других животных.

На общий уровень активности котиков влияет, прежде всего, смена гормонального фона в период размножения, в течение которого животные становятся более агрессивными [2]. В летний период ластоногие активнее питаются, проявляют интерес к любым взаимодействиям, как с представителями своего вида (активно играют), так и с человеком в процессе дрессировки (рис.1 А, Б). Экспонируемые котики, находящиеся в том же помещении, в это время предпочитают играть, активнее плавать (рис.1 Б). Максимальная активность всех животных летом оценивается в 5 баллов. Зимой активность животных значительно ниже, ее формируют сезонные циклы и температурные условия [2]. Плавание становится более пассивным, время сна в течение суток увеличивается, котики могут отказываться от пищи (рис. 2 А, Б). В открытом вольере максимальная активность ластоногих оценивается в 4, в закрытом боксе – в 3 балла.

Таким образом, у северных морских котиков, содержащихся в Ижевском зоопарке, именно дрессировочный процесс и кормление животных

позволяет формировать нормальную активность животных, позволяя удовлетворять их основные физические и когнитивные потребности.

Библиографический список

1. Веретенникова К.Д., Рубцов Ю.А. Особенности кормовой активности северного морского котика (*Callorhinus ursinus*) в зоопарке Удмуртии // Мат-лы Всерос. науч.-практ. конф. «Пять лет зоопарку Удмуртии: реальность и перспективы». Ижевск, 2013. С. 18-28.
2. Кузин А.Е. Северный морской котик. М.: Совет по морским млекопитающим. Москва, 1999. 396 с.
3. Николаева О.А., Зубцовский Н.Е. Поведение северного морского котика (*Callorhinus ursinus*) в зоопарке Удмуртии // Мат-лы Всерос. науч.-практ. конф. «Пять лет зоопарку Удмуртии: реальность и перспективы». Ижевск, 2013. С. 61-65.
4. Попов С.В., Ильченко О.Г. Методы этологических наблюдений за млекопитающими в неволе. М.: Экосистема. 1998. 25 с.
5. Чашкин Е.И. [и др.] Моржи и морские котики в зоопарке Удмуртии. Ижевск, 2014. 234 с.

Влияние двух типов засоления на различные стадии раннего развития речного окуня *Perca fluviatilis*

К.С. Якубова¹, П.Б. Михеев^{1,2}, Ю.В. Вяткина¹

¹ ПГНИУ

² ХабаровскНИРО, Хабаровск, Россия

Аннотация. Засоление пресноводных экосистем в результате использования в зимний период соледержащих реагентов и разработок месторождений соли является серьезной проблемой. Целью данного исследования явилась экспериментальная оценка влияния засоления хлоридом натрия и отходами соледобычи на икру и предличинок речного окуня *Perca fluviatilis*. Результаты свидетельствуют о повышенной токсичности отходов соледобычи по сравнению с раствором NaCl. Также была выявлена большая чувствительность к засолению у икринок на последнем – 8-м этапе развития зародыша перед выклевом. Выводы основаны на разнице в смертности, размерном составе, объеме желточного мешка и развитии морфологических аномалий предличинок.

Ключевые слова: речной окунь, техногенное засоление, температура, выживаемость предличинок, толерантность.

© Якубова К.С., Михеев П.Б., Вяткина Ю.В., 2024

Разнообразие и количество загрязняющих веществ антропогенного происхождения достаточно велико. Негативное воздействие стресс-факторов антропогенной природы может ощущаться на всех этапах жизненного цикла, однако гидробионты зачастую более уязвимы, чем наземные животные. Кроме того, повышенная смертность на критических стадиях жизненного цикла, в частности в период раннего развития, может крайне негативно сказаться на структуре сообществ и сохранении биоразнообразия. Целью данного исследования явилась экспериментальная оценка выживаемости икринок и предличинок речного окуня *Perca fluviatilis*. Известно, что для стадии икринки характерна высокая смертность, однако в литературе отсутствуют сведения о различии стадий эмбрионального развития речного окуня по чувствительности к засолению. Нами было проведено тестирование толерантности икры окуня к засолению на 5-й стадии (органогенез) и 8-й (эмбрионы перед выклевом) стадиях развития. Кроме того, поскольку отходы соледобычи имеют большое количество примесей (Van Dam et al., 2014), второй целью нашего исследования являлся сравнительный анализ токсичности хлорида натрия и вещества солеотвалов с использованием икры окуня в качестве тест-объекта. Рабочей гипотезой исследования являлось предположение о большей токсичности отходов соледобычи по сравнению с хлоридом натрия, а также большая смертность эмбрионов на более ранней стадии развития (Michibata et al., 1987).

В качестве материала для экспериментальной оценки использовали икру окуня. Икра была собрана на мелководных участках Мотовилихинского пруда (г. Пермь), который расположен в локации с координатами 58°02'20" с. ш. 56°19'23" в. д. Икру собирали в прибрежье. В целях обеззараживания, в лабораторных условиях икру обрабатывали 1% раствором формалина, после чего помещали по 30-35 икринок в чашки Петри с тестируемым раствором в трех повторностях. Эксперимент проходил при температурных условиях, оптимальных для нереста и развития икры окуня (8-15°C). Продолжительность эксперимента составила 16 дней для икры на 5 стадии и 10 дней для икры на 8 стадии. В эксперименте было задействовано два типа соли: хлорид натрия и вещество солеотвалов Верхнекамского месторождения солей. Концентрация соли составляла 4 г/л, 8 г/л, 12 г/л, 16 г/л, 20/л и 24 г/л. Для создания фоновых условий использовали водопроводную воду. Подсчет мертвых и живых икринок проводили каждый день, мертвая икра не изымалась. После окончания эксперимента выживших предличинок фиксировали формалином. Далее проводили измерения длины тела и желточного мешка, оценивали характер морфологических аномалий у фиксированных особей под бинокуляром МБС-12.

В результате эксперимента было установлено, что на 5 стадии развития гибель икринок наступала в течение первых суток при солености 20 и 24 г/л. В условиях солености 16 и 12 г/л икринки погибали на 4 и 8 сутки с начала эксперимента соответственно, развитие эмбрионов внутри оболочек не происходило. При концентрации 8 г/л предличинки характеризовались большой встречаемостью аномалий развития, выклеывались лишь единичные экземпляры. К концу эксперимента, в растворе хлорида натрия смертность составила от 100 до 53% икринок (для трех повторностей) и от 100 до 86% для икринок в растворе отходов соледобычи. В условиях солености 4 г/л, смертность к концу эксперимента была близка фоновым значениям (43-24%) и составила 26-20% в растворе NaCl и 71-27% в растворе вещества солеотвалов.

Икринки, помещенные в условия повышенной минерализации на последнем – 8-м этапе развития зародыша перед выклевом из икринки, характеризовались большими темпами смертности. При концентрации солей свыше 12 г/л гибель предличинок происходила в течение первых суток с начала эксперимента. При концентрации 8 г/л все икринки гибли по прошествии 10 суток. Как в фоновых условиях, так и при минерализации 4 г/л массовый выклев свободных эмбрионов из икринок отмечался на 10 сутки с начала эксперимента, показатели смертности были близки.

Была выявлена большая токсичность вещества солеотвалов по сравнению с хлоридом натрия, проявившаяся в меньших значениях длины тела и объема желточного мешка у предличинок, помещенных на стадии органогенеза в раствор отходов соледобычи, по сравнению с особями, содержащимися в растворе NaCl концентрации 4 г/л. Кроме того, среди предличинок, развившихся из икры, находящейся на 8 стадии развития, и помещенной в условия минерализации равной 4 г/л, число особей с аномалиями развития было выше. При этом большая часть аномалий имела тяжелую форму, в частности отек сердца. Меньшая чувствительность к засолению эмбрионов окуня, подверженных экспериментальным условиям на стадии органогенеза, подтверждается тем, что при концентрации 4 г/л, в растворе хлорида натрия морфологические аномалии у развившихся предличинок отсутствовали, а при воздействии вещества солеотвалов большая часть аномалий была представлена легкой формой, в частности искривлением позвоночника.

Результаты проведенного исследования подтверждают нашу первую гипотезу о большей токсичности отходов соледобычи. Основу отходов соледобычи составляют комплекс основных ионов, а именно Na, Ca, Mg, Cl, SO₄ и HCO₃, которые, как правило, считаются малотоксичными (Kunz et al., 2013). Однако повышенное содержание таких микроэлемен-

тов и металлоидов, как Al, As, Cu, Cd, Ni и Zn, может являться дополнительным фактором повышения смертности, как ввиду прямого токсического эффекта, так и ввиду сложных взаимодействий между основными ионами и микроэлементами.

Икра на более поздней стадии развития характеризуется повышенной чувствительностью к засолению, что противоречило нашим ожиданиям. Объяснением может являться онтогенетическая динамика проницаемости хориона. На ранних стадиях развития, в частности стадии органогенеза, хорион обеспечивает большую степень защиты эмбриона. Однако перед выклевом происходит синтез определённых ферментов, которые приводят к рассасыванию зародышевых оболочек и повышают проницаемость оболочки икры для растворенных в воде соединений (Yamagami, 1988). Сниженная проницаемость оболочек икры на ранней стадии развития могла выступать в качестве фактора, приведшего к снижению токсического воздействия и, одновременно, предварительной акклимации к нему эмбрионов и активации механизмов биохимической детоксикации, что позволило снизить токсический эффект засоления (Есин, 2015).

В дальнейшем планируется продолжение экспериментальной работы по влиянию множественных стрессоров на выживание и ход развития ранних стадий жизни рыб.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-20069, <https://rscf.ru/project/22-24-20069/> и при финансовой поддержке Правительства Пермского края в рамках научного проекта № 22-24-20069.

Библиографический список

1. Есин Е.В. Обзор токсичности основных элементов-загрязнителей лососевых нерестовых рек Камчатки // Известия ТИНРО. 2015. №180(1) сс. 210-225.
2. Van Dam R.A., Harford A.J., Lunn S.A., Gagnon M.M. Identifying the cause of toxicity of a saline mine water // PLoS ONE. 2014. №9. e106857.
3. Kunz J.L., Conley J.M., Buchwalter D.B., Norberg-King T.J., Kemble N.E., et al. Use of reconstituted waters to evaluate effects of elevated major ions associated with mountaintop coal mining on freshwater invertebrates // Environmental Toxicology and Chemistry. 2013. №32. P. 2826–2835.
4. Michibata H.Y., Nojima and M.K. Kojima Stage sensitivity of eggs of the teleost *Oryzias latipes* to cadmium exposure // Environ. Res. 1987. №42. pp. 321-327.
5. Yamagami K. Mechanisms of hatching in fish // Fish Physiol. 1988. №11 pp. 447–499.

Гендерная однородность интеллектуальных показателей у собак на основании теста С. Корена

М.М. Ямандий, С.Э. Коротаева
ПГНИУ

Аннотация. Собаки являются одними из самых популярных домашних животных. Знания о гендерных особенностях интеллектуальных способностей собак позволят избежать проблем при выращивании и воспитании, оптимизировать управление питомцем. Тестирование по S. Coren проводится в игровой форме, исключает травматизацию, доступно для выполнения владельцам и собакам с любым уровнем подготовки. Результаты теста выявили отсутствие достоверных гендерных различий при тестировании в стабильных условиях.

Ключевые слова. Интеллект, S. Coren, гендерные группы.

Собаки – это одни из первых одомашненных животных. Процесс доместикации собак происходил 10–15 тысяч лет назад, а 2 тысячи лет назад уже сформировались основные породы, которые использовались по функциональному назначению. В современном обществе собаки занимают важное место в жизни людей и часто расцениваются в качестве члена семьи [5]. К сожалению, люди, которые заводят собак, обычно не имеют необходимых знаний о будущих питомцах для улучшения условий их содержания и повышения комфортности совместного проживания. Подобная неосведомлённость о собственном питомце может превращаться в проблемы, связанные с воспитанием и управляемостью собаки [2].

Исследовательские работы о природе и структуре интеллекта собак относятся к концу XX века [3, 6]. Одним из исследователей интеллектуальных способностей собак был Stanley Coren (1994), который выделил и описал три формы интеллекта собак: инстинктивный, адаптивный и рабочий. Для проверки различных видов интеллекта S. Coren разработал тест, состоящий из 6 заданий, которые проверяют все виды интеллекта. Тестирование должно осуществляться как система игровых заданий. Это делает тест простым и понятным, поэтому увеличивает количество категорий людей, которые способны принимать участие в оценке интеллектуального потенциала питомца: от любителей до профессиона-

лов. Оценка интеллектуальной деятельности собак даже в таком простом варианте поможет избежать многих проблем и неприятностей в общении и работе со своей собакой.

Для выявления гендерных особенностей интеллектуальных способностей собак было использовано тестирование по системе S. Coren (1994). Оригинальный тест был модифицирован до 5 упражнений, при этом проверялись все три вида интеллекта (таблица 1). Оценка упражнений ориентирована строго на время, затраченное на выполнение, без учёта некоторых качественных нюансов.

Таблица 1

Описание теста S. Coren

№	Название упражнения	Тип интеллекта
1	Быстрота достижения цели	Инстинктивный, адаптивный
2	Воля к свободе	Инстинктивный
3	Упорство и изобретательность	Инстинктивный, адаптивный
4	Сообразительность	Инстинктивный, адаптивный
5	Понимание интонаций	Рабочий

Тестирование проводилось на двух площадках: в ВЦ «Perm Expo», в рамках выставки собак, и во Дворце детского творчества (ДДТ), среди участников кружка юных кинологов. На первой площадке в тестировании участвовали 72 собаки 25 пород с разным уровнем подготовки. Владельцы имели разный возраст и навыки. На второй площадке протестировано 17 собак 15 пород, которые не менее трёх месяцев посещали занятия по дрессировке, владельцы – исключительно дети и подростки в возрасте от 7 до 14 лет. Для выполнения одного и того же задания использовали однотипное оборудование разного размера (стаканы, салфетки) в силу различий в комплекции собак.

По результатам тестирования на разных площадках, кобели и суки набрали примерно равное количество баллов, отличия статистически недостоверны (рис. 1).

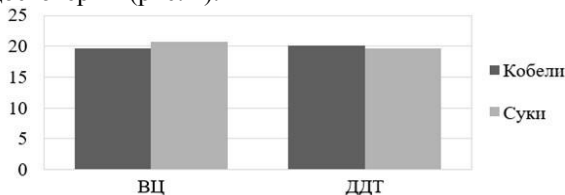


Рис. 1. Результаты тестирования по S. Coren для гендерных групп (задания 1–5, по оси «У» баллы)

При сравнении интеллектуальных показателей отдельно по упражнениям, выявлено, что на обеих площадках обе гендерные группы показали худшие результаты в упражнении № 3 (рис. 2). Упражнение проверяет, аналогично первому и четвертому, инстинктивный и адаптивный виды интеллекта, но требует манипуляций с плоским предметом, которые весьма затруднительны для собак [1].

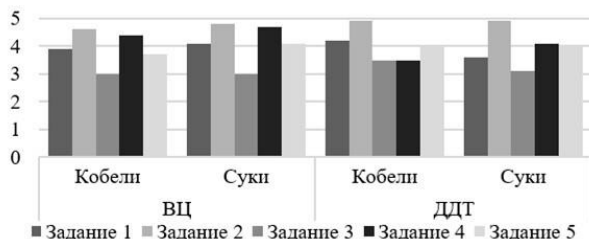


Рис. 2 Результаты тестирования по S. Coren для гендерных групп раздельно по упражнениям (по оси «У» баллы)

Для кобелей на площадке ВЦ отмечен частый отказ от выполнения упражнений, что может быть связано с повышенной ориентацией на исследование незнакомых предметов [4], и, соответственно, превышением временного порога для упражнения. В условиях ДДТ собаки обеих половых групп работали практически безотказно (единственный отказ в упражнении № 3), что объясняется наличием дрессировки у собак.

Полученный результат противоречит общепринятой точке зрения о большей исполнительности сук, но согласуется с данными Л.В. Крушинского (1994), что различия в качестве работы между кобелями и суками проявляются только при воздействии экстремальных факторов. Результаты тестирования выявляют позитивную роль дрессировки любого типа для развития интеллектуальных способностей собак.

Библиографический список

1. Гельберт М.Д. Физиологические основы поведения и дрессировки собак. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Колосс, 2007. 236 с.
2. Гриценко В.В. Послушание собаки. М.: Вече, 2007. 272 с
3. Крушинский Л.В. Биологические основы рассудочной деятельности. 2-е изд. М.: Изд-во МГУ, 1986. 270 с
4. Мычко Е.Н. Поведение собаки. Пособие для собаководов. М.: Аквариум-Принт, 2004. 400 с
5. Трубицына Л.В. Культурные функции взаимодействия человека и собаки // Система ценностей современного общества. 2014. № 38. С. 83–89.
6. Coren S. The Intelligence of Dogs. NewYork: FreePress, 1994. 336 p.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	3
-------------------	---

Секция «Ботаника, генетика и экология растений»

В.А. Ажимова

Молекулярно-генетический анализ зерновых сортов озимой тритикале.....	4
---	---

Н.Н. Бельтюкова, Е.А. Ситникова

Влияние полиморфизма генов на формирование скоростно-силовых качеств единоборцев г. Перми.....	7
--	---

Е.А. Ваганова

Молекулярно-генетический анализ популяций <i>Picea obovata</i> Ledeb. в Пермском крае.....	10
--	----

А.И. Вишкова, Н.Н. Бельтюкова, К.А. Марон, И.А. Тарбеев, В.А. Печенкина

Эколого-генетический анализ озимых сортов (<i>Secale cereal</i> L.).....	13
---	----

Е.И. Гребёнкина

Оценка влияния генотипов на формирование скоростно-силовых качеств дзюдоистов с использованием общего генетического балла..	16
---	----

Л.К. Жуланова, А.В. Шилова

Генетическое тестирование вирусных гепатитов <i>B</i> и <i>C</i>	19
--	----

Ж.А. Кинёва, С.А. Шумихин

Некоторые биологические особенности <i>G. murielae</i> Kelway & Langport ex hort. и <i>G. dalenii</i> subsp. <i>dalenii</i> Van Gell в условиях интродукции в Пермском крае.....	22
--	----

К.Г. Колесникова

Морфологическая изменчивость листьев древесного растения (<i>Acer negundo</i> L.) в условиях антропогенной нагрузки	26
--	----

Д.Н. Кольчурина

Биоразнообразие сосудистых растений в окрестностях д. Осипова (Кудымкарский район).....	30
---	----

Т.А. Лапаева, А. В. Шилова

Трансмиссивные инфекции, выявленные с использованием мультиплексной ПЦР	33
---	----

<i>А.П. Масленникова</i> Молекулярно-генетический анализ кормовых сортов озимой тритикале.....	36
<i>Рябова Е.А., Н.Н.Бельтюкова</i> Молекулярно-генетический анализ <i>Brassica napus</i> L.....	39
<i>В. Л. Спирина</i> Терпены, выделяемые растениями почвенного покрова лесов Пермского края.....	44
<i>О.А. Степанова</i> Молекулярно-генетические маркеры выносливости у единоборцев ...	47
<i>И.А. Тарбеев, М.А. Данилова, А.И. Вишкова, В.А. Печенкина, К.А. Марон</i> Молекулярно-генетический анализ зимостойких сортов озимой ржи <i>Secale cereale</i> L.	50
<i>Н.В. Чертов, Я.В. Сбоева, Ю.И. Нечаева, С.В. Боронникова</i> Генетическое разнообразие популяций сосны обыкновенной на Русской равнине и Среднем Урале	53

Секция «Экофизиология растений и экология почв»

<i>А.К. Арисова</i> Изменения содержания органических кислот в листьях пшеницы в условиях сощелочного стресса	56
<i>М.В. Лесникова, О.З. Еремченко</i> Оценка эффективности рекультивации нефтезагрязненной почвы	60
<i>А.Д. Мальцева, О.А. Четина</i> Реакция растений <i>Avena sativa</i> и <i>Triticum aestivum</i> на комбинированное воздействие засоления NaCl и разной кислотнo-щелочной реакции корневой среды.....	63
<i>Н.В. Москвина, К.М. Канафеева</i> Оценка экологического состояния аллювиальных почв в долинах рек Толыч и Зырянка (Промканал, г. Березники) методом фитотестирования	66
<i>Д.Л. Хлебова, О.А. Четина</i> Изменение активности аскорбатпероксидазы в условиях комбинированного солевого и щелочно-кислотного стрессов.....	69

<i>Л.А. Чудинова, В.В. Пономарева</i>	
Влияние NaCl-засоления на содержание неорганических и органических осмолитов в побегах и корнях проростков гороха	72
<i>С.В. Щербёнок, О.А. Четина</i>	
Некоторые особенности минерального состава растений на вторично засоленной аллювиальной почве	78

Секция «Микробиология, биотехнология, фундаментальная и прикладная медицина, физиология человека, иммунология»

<i>Д.С. Бадалова, Е.А. Тюмина</i>	
Влияние НПВС на жизнеспособность и агрегацию клеток <i>Rhodococcus ruber</i> ИЭГМ 346.....	82
<i>А.А. Брызгалова, А.А. Хасанова</i>	
Механизмы влияния климатических факторов на здоровье человека. 85	
<i>О.И. Бурдина</i>	
Протеомный профиль плазмы крови у детей в условиях внешнесредового аэрогенного воздействия никеля	88
<i>Е.В. Ветчанинова</i>	
Влияние герпетической инфекции на функциональное состояние дыхательной системы у детей	91
<i>С.А. Вожжакова, Л.Ю. Нестерова, М.В. Кузнецова, А.А. Елькин</i>	
Изучение биотехнологических свойств потенциальных пробиотических штаммов <i>E. coli</i> ЛЭГМ-18 и ZP	94
<i>О.А. Громова, А.Ю. Максимов</i>	
Характеристика бактерий – продуцентов гидролитических ферментов, перспективных в качестве стимуляторов роста растений	98
<i>М.Д. Гудошников</i>	
Оценка питания у современных школьников	101
<i>В.А. Дворникова</i>	
Исследование состояния здоровья населения, проживающего вблизи объекта накопленного вреда (на примере г. Усолжье-Сибирское).....	104

<i>А.Д. Елисеева</i> Антагонистическая активность алкалофила « <i>Bacillus aequororis</i> 5-ДБ» по отношению к условно-патогенным микроорганизмам	106
<i>Заколадкин К. А.</i> Оценка влияния автотранспорта на безопасность окружающей среды и здоровье населения урбанизированной территории	109
<i>А.В. Зубарев</i> Оценка влияния нефтеперерабатывающих и нефте-химических предприятий на безопасность окружающей среды и здоровье населения урбанизированной территории.....	112
<i>М.В. Исакова</i> Определение содержания формальдегида в крови детского населения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.	115
<i>О.А. Казакова</i> Влияние объектов накопленного вреда на окружающую среду и здоровье населения	118
<i>И.А. Канюкова</i> Влияние сочетанного воздействия климата и химического загрязнения окружающей среды на заболеваемость взрослого населения промышленных территорий Крайнего Севера.....	122
<i>Л.П. Комарова, А.В. Криворучко</i> Влияние углеводов на экспрессию генов <i>alkB</i> у родококков	125
<i>А.П. Лысюк</i> Особенности территориального распределения объектов накопленного вреда	128
<i>М.Ю. Мазунина</i> Проблема микробной безопасности пищевой продукции животного происхождения на потребительском рынке Российской Федерации.....	131
<i>Д.В. Мальцева</i> Анализ обеспечения экологической безопасности литейного производства машиностроительного комплекса по направлению водоотведения	134

<i>Е.И. Маркелова, Р.Ю. Сидоров, Н.М. Кашеварава, Е.Г. Чиждова</i> (p)ppGpp-сингетазы как факторы персистенции <i>Mycobacterium smegmatis</i>	137
<i>М.А. Мясникова, М.С. Куюкина</i> Синтез биосурфактантов родококками при использовании отработанного растительного масла	141
<i>Е.С. Наговицина, С.В. Гейн, Д.О. Егорова</i> Иммунотоксические эффекты продуктов микробной деградации отдельных производных бифенилов	144
<i>Е.С. Паинова, А.Ю. Максимов</i> Разработка праймеров и ПЦР-протокола для молекулярной диагностики факторов тяжелого течения пульмонологических вирусных заболеваний	147
<i>М.А. Польшгалов, Е.А. Тюмина, И.Б. Ившина</i> Оптимизация процесса биодеструкции кетопрофена.....	150
<i>Е.В. Пьянкова</i> Микробиом содового шламоохранилища как источник штаммов для создания бактериальных препаратов	153
<i>М.Н. Ракутина</i> Влияние наночастиц оксида графена на функциональную активность нейтрофилов.....	156
<i>М.В. Субботина</i> Ответные реакции актиномицетов <i>Rhodococcus cerastii</i> на воздействие ибупрофена	160
<i>Д.И. Усанина</i> Роль наночастиц оксида графена в регуляции функций Т-лимфоцитов	163
<i>И.В. Хохлачёв</i> Влияние автозаправочных станций на здоровье населения урбанизированных территорий	166
<i>С.И. Христинич</i> Влияние металлургического производства на нейроэндокринную и иммунную системы человека	169
<i>А.О. Худякова</i> Физиолого-биохимическая характеристика бактерий-продуцентов гидролитических ферментов из почвенной среды с высокой степенью минерализации	172

<i>Ю.Д. Южанинова, С.В. Гейн</i> Иммуномодулирующие эффекты моноацилтрегалозной фракции <i>Rhodococcus</i> -биосурфактанта	174
--	-----

Секция «Зоология»

<i>А.А. Ардашева, С.Э. Коротаева</i> Мониторинг размерных и возрастных показателей бычка-кругляка р. Кама в районе г. Оса	177
<i>А.А. Белоусова, П.Б. Михеев</i> Морфологическая изменчивость уссурийской востробрюшки в бассейне Амура	180
<i>А.П. Бывальцев</i> Видовой состав и динамика численности веслоногих ракообразных (Copepoda) пресного озера вблизи пос. Апапельгино	183
<i>Ю.В. Вяткина</i> Бюджет энергии северных морских котиков <i>Callorhinus ursinus</i> в условиях Ижевского зоопарка	186
<i>Т.В. Ермакова, Н.Н. Паньков</i> Оценка качества воды верхнего течения реки Лозьвы по биологическим показателям	189
<i>В.И. Жуланова, М. Я. Лямин</i> Видовой состав и структура населения дневных чешуекрылых заказника Предуралье.....	192
<i>Д.А. Заморяхина</i> Таксономический состав и структура населения перепончатокрылых-наездников заказника «Предуралье»	196
<i>Г. Назаров, Н.Б. Овчанкова</i> Пресноводные моллюски позднего голоцена в отложениях долины р. Сырки.....	199
<i>А.С. Семухина</i> Взаимосвязь между содержанием гликогена в тканях и плодовитостью у травяной лягушки <i>Rana temporaria</i> в весенний период.....	203
<i>А.Н. Третьякова</i> Население пауков-герпетобионтов луговых и лесных биоценозов Кудымкарского района.....	206

<i>П.С. Чурбакова, Н. Н. Паньков</i> О росте раковины перловицы обыкновенной <i>Unio pictorum</i> (Linnaeus, 1758) в некоторых водотоках Пермского края	209
<i>Е.Д. Шешукова</i> Суточная активность северного морского котика <i>Callorhinus ursinus</i> в условиях Ижевского зоопарка	212
<i>К.С. Якубова, П.Б. Михеев, Ю.В. Вяткина</i> Влияние двух типов засоления на различные стадии раннего развития речного окуня <i>Perca fluviatilis</i>	215
<i>М.М. Ямандий, С.Э. Кортаева</i> Гендерная однородность интеллектуальных показателей у собак на основании теста С. Корена	219

Научное издание

**Фундаментальные и прикладные исследования
в биологии и экологии**

*Материалы региональной научной конференции
(г. Пермь 17–22 апреля 2023 г.,)*

Издается в авторской редакции
Компьютерная верстка: *А. Б. Крашенинников*

Объем данных 2,89 Мб
Подписано к использованию 07.02.2024

Размещено в открытом доступе
на сайте www.psu.ru
в разделе НАУКА / Электронные публикации
и в электронной мультимедийной библиотеке ELiS

Управление издательской деятельности
Пермского государственного
национального исследовательского университета
614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15