

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

УЧРЕЖДЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ИНСТИТУТ БИОХИМИИ И ФИЗИОЛОГИИ  
РАСТЕНИЙ И МИКРООРГАНИЗМОВ РАН

ГОУ ВПО «САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМ. В.И. РАЗУМОВСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ  
И СОЦИАЛЬНОМУ РАЗВИТИЮ»

РОССИЙСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

УЧЕБНО-НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ СГУ И ИБФРМ РАН

МЕЖРЕГИОНАЛЬНАЯ ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ «МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО»

# **СТРАТЕГИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ И РАСТЕНИЙ С ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДОЙ**

**МАТЕРИАЛЫ V ВСЕРОССИЙСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ  
МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ**

28 сентября – 1 октября 2010 г.

Саратов

УДК 579.26+502.3

ББК 28.4

С83

**Редакционная коллегия**

А.И. Красов (ответственный секретарь), А.В. Тугарова, Г.Л. Бурьгин, О.В. Носова,  
О.В. Турковская (главный редактор)

**Организаторы конференции:**

Российская академия наук

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН

ГОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского  
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Российский фонд фундаментальных исследований

Учебно-научный центр физико-химической биологии СГУ и ИБФРМ РАН

Межрегиональная общественная организация «Микробиологическое общество»

Издание осуществлено при поддержке РАН и РФФИ (проект № 10-04-06817-моб\_г).

Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой:

С83 Материалы конференции / V Межрегиональная конференция молодых ученых, Саратов,  
28 сентября – 1 октября 2010. Саратов: Научная книга, 2010. – 164 с.

**ISBN 978-5-9999-0563-5**

В сборнике представлены тезисы докладов участников V Всероссийской конференции молодых ученых «Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой», организованной Советом молодых ученых ИБФРМ РАН. В работах рассматриваются актуальные проблемы экологии и симбиологии микробов и растений: биоразнообразие микробных и растительных сообществ и их функционирование в природе; механизмы взаимодействия партнеров в симбиозах и ассоциациях; метаболическая и генетическая интеграция в растительно-бактериальных симбиозах; микробная коммуникация и ее роль во взаимодействии с макроорганизмом-хозяином; разнообразие микробных метаболитов и их влияние на организм человека и животных; адаптация микроорганизмов и растений к воздействию неблагоприятных природных факторов.

Сборник представляет интерес для специалистов, работающих в области микробиологии, биохимии микроорганизмов и растений и симбиологии, а также для аспирантов и студентов высших учебных заведений медицинских и биологических специальностей.

Тезисы издаются в авторской редакции.

УДК 579.26+502.3

ББК 28.4

Издательский Центр «Наука», 2010

**ISBN 978-5-9999-0563-5**

## *Участникам конференции*

V Конференция молодых ученых «Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой» знаменательна тем, что проводится в год 30-летия ИБФРМ РАН.

За время существования Института выросло не одно поколение молодых ученых, самые первые из которых стали докторами наук, руководителями лабораторий, сформировали самостоятельные научные направления, школы. Традиционно они выступают на молодежных конференциях с пленарными лекциями-докладами, задавая тон начинающим исследователям. Совет молодых ученых ИБФРМ РАН, который является инициатором проведения «Стратегии», уже дважды сменил свой состав, неизменно оставаясь активным и целеустремленным, со всем свойственным молодежи азартом включаясь в организацию очередного мероприятия.

В Институте ежегодно проводятся научные конференции различного формата, но именно эта, молодежная, пользуется особой популярностью. В этом году для участия в ней представлено более 120 заявок. Это радует и позволяет надеяться на пополнение российской науки молодыми талантами.

Безусловно, молодые ученые, пожелавшие участвовать в конференции, хорошо образованы, серьезно занимаются наукой и, что следует из присланных тезисов докладов, обладают любознательностью и упорством. Выдающийся ученый-естествоиспытатель Н.Г. Холодный писал, что научное творчество заключается в том, что «опираясь на факты, – на этот, по выражению И.П. Павлова, «воздух ученого», – мысль исследователя постепенно поднимается к широким обобщениям и эти последние, в свою очередь, ведут к новым вопросам, к поискам новых фактов, которые могли бы служить опорной точкой для дальнейшего победного движения науки». Опубликовав в сборнике Московского общества естествоиспытателей природы в 1949 г. серию своих замечательных очерков о растениях и микроорганизмах, он пытался привлечь внимание начинающих биологов к процессу научного познания и сделал это в совершенно завораживающей форме, сочетая литературный слог с точностью научных формулировок. И сейчас, читая эту книгу, понимаешь, что без всепоглощающей любви к научному процессу не может быть настоящего ученого, не могут быть получены новые достоверные данные, выдвинуты новые важные гипотезы, разработаны современные теории.

Хочется надеяться, что наших молодых ученых не напугает фильм-страшилка о плесени, который содержит такое количество микробиологических «ляпов», что его должно быть стыдно показывать по центральному каналу. Участники нашей конференции не поверят на слово жаждущему сенсаций журналисту, объявившему о том, что ученые «разработали лекарство от старости» из выделенных из вечной мерзлоты бактерий, всего лишь имея информацию об увеличении продолжительности жизни мышей и дрозофил. Правда, в ходе испытаний обнаружилось, что у мушек падала плодовитость, но, видимо, для журналиста этот аспект не столь важен. Грамотный же ученый прекрасно понимает, что от выделения этих микроорганизмов до их возможного

применения должен пройти не один этап исследований по полному раскрытию геропротекторного механизма, и только после этого можно будет говорить о лекарственном препарате.

Наука – это творчество. Только человек определенного склада ума и характера может этим заниматься. Он будет исследовать интересный ему объект или явление несмотря ни на что, даже на неприятие обществом, а через какое-то время его работы, возможно, произведут научную революцию. Такие пытливые люди в обществе присутствуют всегда, и именно им мы обязаны сохранением науки в нашей стране, где сейчас совершается очередная попытка дискредитировать и разрушить Российскую академию наук, вменяя ей неактуальность и низкий практический выход. Обидно, когда ученых заставляют заниматься менеджментом, их дело – наука, а не создание бизнес-планов. Для прорывных технологий нужна серьезная научная база. Хочется верить, что научное сообщество, в том числе и молодые ученые, благодаря более высокому, чем у чиновников, IQ, сумеют и на этот раз не позволить лишить страну статуса великой державы.

Сопредседатель конференции  
д.б.н., профессор

О.В. Турковская

# ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

## **КОММУНИКАЦИЯ В РАСТИТЕЛЬНО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ СИМБИОЗАХ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

*Антонюк Л.П., Соболева Е.Ф.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: ant306@ibppm.sgu.ru

Известно, что сложные организмы, к которым относятся не только животные, но и высшие растения, существуют в природе в виде многоорганизменных сообществ, что достигается обильной колонизацией макроорганизма-хозяина бактериями, грибами, вирусами и в некоторых случаях археями. Что касается растений, их здоровье и продуктивность во многом зависят от того, какие микробы и в каком количестве колонизируют поверхность и внутренние компартменты растения. Это, в свою очередь, делает необходимым изучение регуляторных факторов, обеспечивающих межорганизменную коммуникацию и формирование устойчивых высокопродуктивных симбиозов.

Предпринята попытка проанализировать накопленные к настоящему времени сведения (i) о видах мутуалистических симбиозов, для которых уже имеются экспериментальные данные по межорганизменной коммуникации макро- и микропартнеров, (ii) о типах коммуникации в симбиозах, (iii) о химическом строении молекул, являющихся реальными участниками «молекулярного диалога» (или могущими быть сигналами для растения и бактерии), (iv) об уже известных особенностях и закономерностях в обмене молекулярными сигналами при формировании и функционировании симбиозов.

Анализ накопленных экспериментальных данных для достаточно изученных систем (отдельные бобово-ризобияльные, а также некоторые ассоциативные и эндофитные симбиозы) убедительно свидетельствует о том, что образование и функционирование этих надорганизменных систем определяется целой сетью низкомолекулярных и высокомолекулярных сигналов, часть из которых обладает широкой специфичностью. В эту группу молекулярных сигналов входят алкилрезорцины и некоторые другие алкилоксибензолы, продуцируемые как высшими растениями, так и многими микробами. Известно, что бактерии-фитосимбионты синтезируют также ацилгомосеринлактоны, регулирующие отдельные процессы, важные для успешной колонизации растения-хозяина.

Среди высокомолекулярных и специфичных веществ, участвующих в межорганизменной коммуникации, важная роль принадлежит лектинам – (глико)протеинам, связывающим строго определенные углеводные группы на поверхности клетки-мишени. Роль растительных лектинов в колонизации бактериями растения-хозяина и перестройке метаболизма бактерии-симбионта имеет уже довольно большую доказательную базу. Меньше сведений о роли бактериальных лектинов, тем не менее, они в ряде случаев, вероятно, также являются участниками «молекулярного диалога», важного для формирования симбиоза.

## ПРОБЛЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ СИСТЕМ ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ МЕТАЛЛАМИ ПОЧВ

*Белимов А.А.<sup>1</sup>, Зиновкина Н.Ю.<sup>1</sup>, Сафронова В.И.<sup>1</sup>, Семенова Е.В.<sup>2</sup>,  
Вишнякова М.А.<sup>2</sup>, Piluzza G.<sup>3</sup>, Bullitta S.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>ISPAAM-CNR-u.t. Sassari, 07041 Li Punti-Sassari, Italy  
E-mail: belimov@rambler.ru

Для обеспечения эффективной фиторемедиации загрязненных тяжелыми металлами почв актуальными являются проблемы повышения металлоустойчивости растений и поиск приемов регуляции аккумуляции токсикантов в их надземной части. Потенциал бобовых растений семейства *Fabaceae* для ремедиации почв в настоящее время изучен очень слабо. Причиной этого служат сведения об их низкой устойчивости и слабой металл-аккумулирующей способности, по сравнению с представителями семейств крестоцветных или злаковых растений. Однако бобовые растения характеризуются высокой скоростью роста и обладают достаточно большой биомассой. Эффективное использование потенциала полезных микроорганизмов, их ассоциаций с растениями, в особенности с такими высоко-симбиотрофными видами, как бобовые, представляется весьма привлекательным для создания растительно-микробных систем для фиторемедиации загрязненных почв и восстановления здоровых экосистем. Однако нами установлено, что (1) устойчивые к кадмию генотипы менее эффективно используют защитный потенциал, обусловленный взаимодействием с микроорганизмами; (2) взаимодействия между растениями и микроорганизмами могут быть более чувствительны к металлам, чем сами симбионты; (3) микроорганизмы способствуют снижению поступления токсичных металлов в надземные органы. Однако последний эффект может быть положительным результатом для получения экологически чистой продукции в условиях загрязненных агроландшафтов и ведения экологически безопасных процессов фитостабилизации. В докладе обсуждаются возможные подходы для изучения наблюдаемых явлений и решения указанных проблем: (1) селекция отзывчивых на инокуляцию и устойчивых генотипов растений; (2) мутагенез и создание трансгенных растений; (3) реализация антистрессового потенциала микроорганизмов и биоинженерия ризосферы; (4) эффективная интеграция компонентов системы «почва, микроорганизмы и растения».

*Работа была поддержана грантами РФФИ (02-04-4973-а; 06-04-49486-а; 09-04-01614-а; 10-04-01157-а), Научным национальным центром Италии (T4 AGR 2001-2, 3N60 AM7 2003-4, SMP2009/0030378), и программами INCO COPERNICUS (PL971112) и INTAS (01-2170).*

## **ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ АЗОТА В КОРНЕВОЙ ЗОНЕ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ БИОЛОГИЧЕСКИХ И АБИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ**

*Волкогон В.В.*

Институт сельскохозяйственной микробиологии НААН Украины, Чернигов  
E-mail: rifam@ukrpost.ua

Установление у азотфиксирующих микроорганизмов способности переходить к денитрификации при наличии в среде минеральных соединений азота (нитратов) предполагает возможность довольно точного определения рациональных с физиологической точки зрения доз азотных удобрений, применяемых в аграрных технологиях. Эти подходы могут быть также существенным дополнением к определению физиологически оптимальных доз азота для сельскохозяйственных культур при изучении процесса ассоциативной азотфиксации.

В полевых опытах с пшеницей озимой, ячменем ярым, кукурузой, картофелем и злаковыми травами изучали в динамике активность ассоциативной азотфиксации и биологической денитрификации под влиянием возрастающих доз удобрений и микробиологических препаратов, приготовленных на основе специфических к растительному виду активных diaзотрофов.

В зависимости от культуры рациональные дозы минеральных удобрений (способствующие на протяжении наибольшего отрезка времени проявлению высокой нитрогеназной активности и незначительному уровню эмиссии  $N_2O$  в ризосфере растений в сравнении с соответствующими показателями контрольного варианта) были различны. Однако характер влияния предпосевной бактериализации на изучаемые процессы был сходен. Так, эмиссия закиси азота в корневой зоне бактериализованных растений уменьшалась при их выращивании на физиологически оптимальных агрофонах. При этом возрастала активность ассоциативной азотфиксации. По фону высоких доз азотных удобрений применение биопрепаратов способствовало существенному увеличению газообразных потерь азота из почвы. В данном случае прослеживается справедливость известной истины: природа не терпит избытка азота (и «подключает» к этому все возможные механизмы).

Данные наблюдения могут быть востребованы при отработке методологических подходов к определению оптимальных доз удобрений в земледелии, особенно, если учесть высокую степень чувствительности газохроматографических методов определения процессов биологической трансформации азота в агроценозах.

## РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА АГЛ-СИНТАЗЫ *ERWINIA CAROTOVORA ATROSEPTICA* АНТИСМЫСЛОВЫМИ ТРАНСКРИПТАМИ ГЕНА *expR*

Гоголев Ю.В., Гоголева Н.Е., Гориков В.Ю., Дамина А.Г.

Институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань  
E-mail: gogolev21@mail.ru

Феномен РНК-интерференции широко распространен среди растений, животных и грибов. На его основе эукариотами создан сложный механизм, который служит для защиты от вирусов, а также вовлечен в регуляцию экспрессии генов и метилирования ДНК. Хотя у прокариот подобного механизма не выявлено, показано участие коротких антисмысловых РНК в защите бактерий от бактериофагов [1]. В то же время в геномах бактерий обнаружена значительная доля перекрывающихся генов, транскрибирующихся в противоположных направлениях. Цепь-специфичный транскриптомный анализ позволил установить, что такие гены могут экспрессироваться одновременно, с образованием антисмысловых транскриптов. Кроме того, показано наличие в транскриптоме бактерий большого количества некодирующей РНК [2]. Хотя этим транскриптам по аналогии с интерферирующей РНК приписывается возможная роль в посттранскрипционной регуляции экспрессии генов, экспериментальных подтверждений этому получено не было.

У *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* нами выявлено перекрывание 3'-концевых участков генов АГЛ-синтазы *expI* и регуляторного гена *expR*. Ранее было показано, что у данного штамма регуляторный белок ExpR утратил сродство к промотору *expI*. В то же время у рекомбинантного клона *E. coli*, несущего плазмиду с *expIexpR*-локусом, нами обнаружена обратная зависимость АГЛ-продукции от транскрипционной активности регуляторного гена. Представленная модель может служить одним из первых примеров регуляторной роли антисмысловых транскриптов у бактерий.

1. Brouns S.J.J., Jore M.M., Lundgren M., Westra E.R., Slijkhuis R.J.H., Snijders A.P.L., Dickman M.J., Makarova K.S., Koonin E.V., Van der Oost J. Small CRISPR RNAs Guide Antiviral Defense in Prokaryotes. // Science. – 2008. – Vol. 321. – P. 960 – 964.

2. Filiatrault M.J., Stodghill P.V., Bronstein P.A., Moll S., Lindeberg M., Grills G., Schweitzer P., Wang W., Schroth G.P., Luo S., Khrebtukova I., Yang Y., Thannhauser T., Butcher G., Cartinhour S., Schneider D.J. Transcriptome analysis of *Pseudomonas syringae* identifies new genes, noncoding RNAs, and antisense activity. // J. Bacteriol. – 2010. – Vol. 192. – P. 2359–2372.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕНОМЕНА БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЦИДНЫХ И БАКТЕРИОРЕГУЛЯТОРНЫХ ФАКТОРОВ**

*Дерябин Д.Г.*

Оренбургский государственный университет, Оренбург

E-mail: [dgderyabin@yandex.ru](mailto:dgderyabin@yandex.ru)

Биолюминесценция – свечение живых организмов, обусловленное протекающими в них специфическими биохимическими реакциями. В микромире биолюминесценция зарегистрирована у представителей четырех родов гаммапротеобактерий, вступающих в симбиотические отношения с живыми объектами более высокого уровня организации и сообщающих им значимые конкурентные преимущества.

Прикладное значение данного феномена заключается в разработке на его основе широкого спектра методов биолюминесцентного анализа (БА), в качестве своего результирующего параметра использующих различные характеристики свечения. При этом важнейшими преимуществами БА являются высокая чувствительность, быстрое действие с возможностью проведения исследований в режиме реального времени, а также реализация ряда генетических подходов с переносом генов биолюминесценции в широкий круг гетерологичных хозяев.

Первый вариант БА основан на тесной интегрированности биолюминесцентной системы с энергетическими потоками бактериальной клетки. В результате использование микроорганизмов с конститутивной экспрессией генов биолюминесценции позволяет на основе анализа интенсивности свечения получать информацию о функциональном состоянии и жизнеспособности подобных сенсорных систем. В частности, анализ характеристик люминесцентного отклика природных морских люминесцирующих бактерий в контакте с различными абиотическими природными средами и химическими соединениями позволяет количественно оценить их интегральную биотоксичность. В свою очередь клонирование генов биолюминесценции в клетках патогенных и условно-патогенных микроорганизмов создает возможность использования БА для исследования гуморальных и клеточных бактерицидных систем человека и животных.

В основу другого варианта БА положено клонирование генов биолюминесценции под контролем различных индуцибельных промоторов. Возникающие в результате этого репортерные люминесцирующие системы оказываются способными отвечать развитием свечения в ответ на воздействие соответствующих стрессовых факторов или бактериорегуляторных молекул.

В совокупности сенсорные и репортерные люминесцирующие тест-системы оказываются достаточно удобным и высокочувствительным инструментом для изучения биологической активности и механизмов действия широкого круга факторов, представляющих интерес для практического использования в биотехнологии, экологии, медицине и ветеринарии.

## **МИКРОБНЫЕ ГЛИКОПОЛИМЕРЫ В РАСТИТЕЛЬНО- БАКТЕРИАЛЬНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ НА МОДЕЛИ СВОБОДНОЖИВУЩИХ РИЗОБАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM***

*Коннова С.А.*

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов  
Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: konnova@ibppm.sgu.ru, KonnovaSA@info.sgu.ru

Ассоциативные взаимодействия бактерий и растений в ризосфере в последние годы рассматриваются как форма симбиоза, так как доказано взаимное положительное влияние партнеров и выявлены аналогии механизма реализации взаимоотношений на молекулярном уровне с таковыми в бобово-ризобиальном симбиозе. Молекулярный диалог в ходе формирования ассоциаций происходит с участием разнообразных метаболитов как растений, так и структурных компонентов бактерий.

Со стороны бактерий, в частности представителей рода *Azospirillum*, показана важная роль гликополимеров поверхности на этапах таксиса к корням растений, флокуляции, агрегации, адгезии и адсорбции на различных поверхностях, формирования биопленок. Такая полифункциональность гликополимеров связана с разнообразием, различной представленностью в динамике роста культуры и особенностями их структуры. Для понимания молекулярных механизмов этих процессов необходимы сведения о химическом составе бактериальных полисахаридсодержащих компонентов клеточных мембран (липополисахаридах и липополисахарид-белковых комплексах), капсульных полисахаридах и экзополисахаридах, экспонированных и поступающих в окружающую среду в ходе метаболизма. Длительное время существовало представление о наличии штаммовой «уникальности» структур гликополимеров азоспирилл. Анализ литературных данных по этому вопросу, а также обзор результатов собственных исследований, представленных в докладе, позволяют резюмировать наличие неких корреляций между условиями существования и химической структурой гликополимеров, которая в одних случаях обнаруживает штаммовое разнообразие среди представителей одного вида, а в других – идентичность у представителей разных видов бактерий, изолированных с растений в различных географических и климатических зонах. Предполагается, что одним из факторов, определяющих унификацию, является существование бактерий в сходных экологических нишах, однако для однозначных выводов необходимо интенсифицировать структурные исследования гликополимеров представителей различных видов азоспирилл, которые идентифицированы в последние годы.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (проект 08-04-00669).*

## МИКРОБНО-РАСТИТЕЛЬНО-СИГНАЛИНГ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

*Тихонович И.А., Жуков В.А.*

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной  
микробиологии Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Пушкин  
E-mail: ARRIAM2008@yandex.ru

Рецепторные киназы играют ключевую роль в реакциях растения на изменение условий внешней среды. Симбиотические рецепторные киназы определяют специфичность взаимодействий с клубеньковыми бактериями, принимают участие в сигналинге при развитии симбиозов, а также регулируют интенсивность микробной колонизации. Изучение структуры и функций данных киназ позволяет выяснять детальные механизмы генетической интеграции бобовых растений и почвенных микроорганизмов.

Основные этапы сигнальных взаимодействий с клубеньковыми бактериями и эндомикоризными грибами активно изучаются с использованием модельных бобовых растений люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.) и лядвенца японского (*Lotus japonicus* (Regel.) Larsen), а также гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Было показано, что при развитии эндомикоризы и азотфиксирующих клубеньков растение использует один и тот же сигнальный каскад, центральным звеном которого является кальций/кальмодулин-зависимая киназа. Рецепторы, воспринимающие сигнальные молекулы бактерий и грибов, напротив, различны и характеризуются различной степенью специфичности по отношению к сигналу микросимбионта. Исключительно высокая специфичность взаимодействия с клубеньковыми бактериями определяется наличием у растения рецепторных киназ, распознающих структуру Nod-фактора – сигнальной молекулы, выделяемой бактериями. Изучение полиморфизма генов, кодирующих данные рецепторные киназы, у серии природных генотипов гороха посевного показало, что различные домены рецепторных киназ характеризуются разной степенью изменчивости у различных генотипов, что отражает вариабельность механизмов распознавания сигнальных молекул, выделяемых микроорганизмами.

Изучение взаимного узнавания бобовых растений и микроорганизмов, а также последующих этапов сигналинга, представляется весьма важным в свете значимости бобовых растений для современного сельского хозяйства. Полученные знания, в частности, информация о ценных аллелях симбиотических генов, ассоциированных с эффективностью симбиотических взаимодействий, делают возможным создание новых сортов культурных бобовых растений для использования в адаптивном растениеводстве.

Работа поддержана грантами РФФИ (09-04-00907, 09-04-13895, 09-04-91054, 09-04-91293, 10-04-00961, 10-04-01146), NWO 047.018.001, грантом Президента России (НШ-3440.2010.4), Госконтрактами Минобрнауки (02.740.11.0276).

## НАНОБИОТЕХНОЛОГИЯ И НАНОБЕЗОПАСНОСТЬ ЧАСТИЦ С ПЛАЗМОННЫМ РЕЗОНАНСОМ

Хлебцов Н.Г.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: [khlebtsov@ibppm.sgu.ru](mailto:khlebtsov@ibppm.sgu.ru)

Золотые наночастицы с настраиваемым плазмонным резонансом (ПР) [1] широко используются в современной нанобиотехнологии в качестве меток резонансного рассеяния в геномике, биосенсорике и биоимиджинге, в качестве фототермических преобразователей лазерного излучения, для доставки лекарственных средств и антигенов и для других биомедицинских приложений [2]. Однако спектральный диапазон настройки ПР золотых наночастиц лежит обычно в красной и ближней ИК области (от 650 нм), если не считать обычных частиц коллоидного золота с ПР около 520 нм. Решение проблемы достигается комбинированием двух металлов – золота и серебра, наряду с другими известными принципами изменения формы и структуры.

В первой части лекции обсуждаются результаты по синтезу и оптическим свойствам золотых наностержней с серебряной оболочкой [3]. Формирование серебряной нанооболочки контролировалось смещением ПР экстинкции и светорассеяния, появлением характерных пиков серебра в энергодисперсионных рентгеновских спектрах образцов, данными трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии и сопровождалось визуальным изменением цвета коллоидов. Предложен метод оценки толщины серебряной нанооболочки по относительному спектральному сдвигу [4].

Во второй части сообщения представлены экспериментальные результаты по синтезу и фототермическим свойствам серебряных нанокубиков и золото-серебряных наноструктур, получаемых на их основе [5]. Золотосеребряные наноклетки синтезированы методом гальванического замещения из серебряных нанокубиков, получаемых полиольным синтезом путем восстановления нитрата серебра в этиленгликоле в присутствии индуктора (сульфида натрия) и поливинилпирролидона. Формирование наночастиц контролировалось теми же методами, что и для Au/Ag наностержней. Представлены сравнительные данные по кинетике лазерного нагрева золотых нанооболочек на ядрах из двуокиси кремния, золотых наностержней и золотых наноклеток в экспериментах *in vitro* (культуры клеток) и *in vivo* (крысы). При равной оптической плотности на длине волны плазмонного резонанса и лазерного нагрева (около 800 нм) эффективность нагрева в расчете на единицу массы золота убывала в ряду наноклетки, наностержни и нанооболочки.

В третьей части лекции представлен метод количественной оценки мечения клеток с использованием композитных золотых нанооболочек [6]. Экспериментальная модель основана на биоспецифическом мечении клеток почек эмбриона свиньи (SPEV) первичными фаговыми антителами с последующим вторичным мечением конъюгатами золотых нанооболочек с антифаговыми кроличьими антителами. С использованием разработанного алгоритма обработки изображений был вычислен количественный фактор

эффективности мечения как отношение пикселей со связанными нанооболочками к полному числу пикселей на клетку и показано, что этот фактор в 49 раз превышает таковой для негативного контроля (клетки без частиц) и в 17 раз больше, чем в случае неспецифического мечения клеток, не обработанных фагами.

В заключительной части лекции дан краткий обзор данных по биораспределению и токсичности золотых наночастиц в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [7]. Литературные данные (1995 – март 2010) систематизированы по типу и параметрам частиц, поверхностной функционализации, моделям (клеточные и животные), исследуемым органам, применяемым дозам, способам введения и длительности эксперимента, а также методам оценки токсичности и концентрации золотых наночастиц в органах или распределения по клеткам. На основе критического анализа сделаны обобщенные выводы о ключевых параметрах частиц, способах модификации их поверхности и доз, которые определяют тип и кинетику биораспределения, цитотоксичность и токсичность на уровне организма.

1. Дыкман Л.А., Богатырев В.А., Щеголев С.Ю., Хлебцов Н.Г. Золотые наночастицы: Синтез, свойства, биомедицинское применение. – М.: Наука, 2008.

2. Khlebtsov N.G., Dykman L.A. // J. Quant. Spectr. Radiat. Transfer. – 2010. – Vol. 111. – P. 1-35.

3. Хлебцов Б.Н., Ханадеев В.А., Богатырев В.А. и др. // Российские нанотехнологии. – 2009. – Т. 3. – С. 93-103.

4. Khlebtsov B.N., Khanadeev V.A., Khlebtsov N.G. // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2010. – Vol. 12. – P. 3210-3218.

5. Хлебцов Б.Н., Ханадеев В.А., Максимова И.Л. и др. // Российские нанотехнологии. – 2010. – Т 5. (в печати).

6. Khanadeev V.A., Khlebtsov B.N., Staroverov S.A. *et al.* // J. Biophotonics. – 2010. – Vol. 3. – P. 1-8 (doi:10.1002/jbio.200900093).

7. Хлебцов Н.Г., Дыкман Л.А. Биораспределение и токсичность золотых наночастиц // Российские нанотехнологии. – 2010. (в печати).

## ***RHIZOBIUM* И РАСТЕНИЯ: ДВЕ СТРАТЕГИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ**

Чумаков М.И.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: [chumakov@ibppm.sgu.ru](mailto:chumakov@ibppm.sgu.ru)

Бактерии родов *Agrobacterium* и *Rhizobium*, представляя одно семейство *Rhizobiaceae*, обладают различными стратегиями взаимодействия с высшими растениями. Агробактерии различных видов, обитая в почве, при определенных условиях переходят в патогенную форму, вызывая неконтролируемый рост растительных клеток в месте поражения (галлы на стеблях, листьях и эффект «бородатого корня» у растений). Ризобии различных видов, также являясь обитающими в почве сапрофитами, при определенных условиях инфицируют корни соответствующих видов растений, переходят в симбиотическую форму, вызывая образование дифференцированных клубеньков на корнях, стеблях бобовых растений. При этом симбиозе партнеры способны связывать атмосферный азот. В докладе рассматривается функционирование симбиотических генов и генов вирулентности, расположенных на Ti (Ri) плазмиде у агробактерий и на Sym плазмиде у ризобий. В докладе приводится анализ бактериальных и растительных генов и их продуктов, реализующих две стратегии взаимодействия. В докладе приведены экспериментальные данные лаборатории биоинженерии ИБФРМ РАН по использованию T-ДНК агробактерий в качестве вектора для переноса маркерных и функциональных генов в злаки, используемые в сельском хозяйстве.



# СЕКЦИЯ 1

## **БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ И ИХ ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ**

## МЕТОДЫ ДЛИТЕЛЬНОЙ КОНСЕРВАЦИИ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПРИРОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ

*Алешкевич И.И., Кантерова А.В., Новик Г.И.*

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

E-mail: shuniborova@mail.ru

В Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов (БКМ) поддерживаются 130 штаммов мицелиальных грибов различных таксономических групп, выделенных из природных источников регионов Беларуси, из них 82 штамма относятся к дереворазрушающим. Гарантией сохранения таких природных ресурсов является их поддержание в микробных коллекциях, где грибы являются также объектами научных исследований. Грибы в природе имеют прочно сложившиеся и чрезвычайно разнообразные связи с растительным и животным миром (например, различные виды симбиоза). Дереворазрушающие грибы имеют существенное значение как один из факторов поддержания стабильности окружающей среды и саморегулирования экосистем, особенно в условиях сложной экологической обстановки.

В БКМ дереворазрушающие грибы родов *Abortiporus*, *Bjerkandera*, *Crinipellis*, *Daedaleopsis*, *Flammulina*, *Ganoderma*, *Gloeophyllum*, *Inonotus*, *Lentinus*, *Phellinus*, *Phlebia*, *Piptoporus*, *Pleurotus*, *Русноporus*, *Serpula*, *Sporotrichum*, *Stereum*, *Trametes*, *Sporotrichum*, *Tricholomopsis* хранятся методами периодических пересевов и криоконсервации при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Для процесса криоконсервации оптимизированы условия культивирования до замораживания, скорость понижения температуры, условия процесса оттаивания. Для каждого вида грибов также подобраны оптимальные протекторные среды, в большинстве случаев это обезжиренное молоко, глицерин и диметилсульфоксид. Культуры сохранили жизнеспособность после длительного хранения в замороженном состоянии. Сравнение морфологических и физиологических свойств грибных культур, которые хранились при  $-70^{\circ}\text{C}$  с такими же показателями у культур, поддерживаемых методом периодических пересевов не выявило каких-либо отличий. Следует отметить, что дереворазрушающие грибы, относящиеся к родам *Abortiporus*, *Gloeophyllum*, *Ganoderma*, *Phlebia*, *Sporotrichum*, *Tricholomopsis* после восстановления из замороженного состояния отставали по скорости роста колоний от культур, поддерживаемых периодическими пересевами, однако через 2-3 суток такие различия уже не наблюдались. Таким образом, хранение дереворазрушающих грибов длительное время в замороженном состоянии является удобным методом их консервации. Это исключает довольно частые пересевы грибов на свежую питательную среду, поскольку культуры, относящиеся к такой таксономической группе, очень быстро утилизируют субстрат, на котором выращиваются.

## ПЛАЗМИДНЫЕ ПРОФИЛИ ЛАКТОКОККОВ ИЗ БЕЛОРУССКОЙ КОЛЛЕКЦИИ НЕПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

*Барейко А.А., Сидоренко А.В., Новик Г.И.*

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

E-mail: [ganachka@mail.ru](mailto:ganachka@mail.ru)

В настоящее время большое внимание уделяется изучению плазмид бактерий рода *Lactococcus*. Научные разработки в этой области расширяют представления о биологии лактококков, их эволюции и взаимодействии с другими микроорганизмами, обитающими в тех же эконишах, а также служат базой для проведения генно-инженерных манипуляций с данными бактериями.

Цель работы – изучение плазмидных профилей штаммов *Lactococcus*, депонированных в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов.

При исследовании плазмидных профилей лактококков установлено, что в клетках всех штаммов присутствует экстрахромосомная ДНК. Штаммы *L. lactis* subsp. *lactis* БИМ В-132 (типовой) и *L. lactis* subsp. *lactis* БИМ В-426 (выделен из хвои) имели схожий плазмидный состав и содержали не менее двух плазмид. В клетках *L. lactis* subsp. *cremoris* БИМ В-424 (выделен из хвои) была обнаружена только одна плазида, а в клетках *L. lactis* subsp. *lactis* БИМ В-425 (выделен из хвои) – не менее четырех плазмид. Все штаммы лактококков содержали крупные малокопийные плазмиды, за исключением *L. lactis* subsp. *lactis* БИМ В-425, в клетках которого также выявлены плазмиды с низкой молекулярной массой. Полученные результаты согласуются с данными литературы, согласно которым в клетках *Lactococcus* обнаруживается от 2 до 11 плазмид с молекулярной массой от 3 до 130 т.п.н. Лактококки, выделенные из природных источников, содержат большое количество плазмид различной молекулярной массы, которые могут утрачиваться в процессе лабораторного культивирования. Можно предположить, что небольшое количество плазмид (от 1 до 4 на клетку), характерное для исследуемых нами штаммов *Lactococcus*, связано с их длительным поддержанием методом субкультивирования.

Планируется дальнейшая работа по изучению структуры и функций обнаруженных плазмид лактококков.

## ФОРМИРОВАНИЕ СООБЩЕСТВА МИКРОМИЦЕТОВ В ПОЧВЕ ПАРОВОГО ЗВЕНА ЗЕРНОСВЕКЛОВИЧНОГО СЕВООБОРОТА

Бородкин О.И.

Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и  
сахара им. А.Л. Мазлумова, Воронежская область  
E-mail: Lezha\_mail@mail.ru

Поступающие в почву растительные остатки представлены в основном целлюлозой, лигнином, белками и углеводами. В процессе их разложения участвует целый комплекс почвенных микроорганизмов, в том числе и микромицеты. Прижизненные выделения растений, на долю которых приходится до 30-40% общей продукции органических веществ, также оказывают значительное воздействие на структуру микробного сообщества почвы.

Для установления степени влияния черного пара, озимой пшеницы, сахарной свеклы, ячменя и удобрений на формирование сообщества микромицетов чернозема выщелоченного, на территории ВНИИСС им. А.Л. Мазлумова в 1998 г. был заложен длительный полевой опыт.

Численность микромицетов учитывали методом посева почвенной суспензии на среду Чапека с последующим определением их родового состава.

В исследованиях 2008-2009 гг. установлено, что численность микроскопических грибов, участвующих в деструкции пожнивных остатков ячменя в пару, составляла 20.5-33.1 тыс. КОЕ в 1 г а. с. п. Преобладающими родами являлись *Penicillium* (39%) и *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* (в сумме 39%).

В посевах озимой пшеницы численность микромицетов не превышала 28.0 тыс. КОЕ и была большей в начальный период вегетации культуры. Вероятно, поступающие в почву корневые экссудаты легко захватывались микромицетами, обладающими высокой линейной скоростью роста. Их родовая структура представлена *Penicillium* (33%), *Trichoderma* (28%), *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* (в сумме 28%), *Mucor* и *Aspergillus* (менее 10%).

Оптимальные условия для развития микромицетов складывались в посевах сахарной свеклы на фоне  $N_{100}P_{100}K_{100}$ , что связано с внесением в почву азота. Их численность достигала 36.9 тыс. КОЕ, что выше, чем на фоне без удобрений на 29%. В родовой структуре преобладали *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* (в сумме 46%). Доля *Penicillium* составляла 38%, а остальные не превысили 10%.

В посевах ячменя на фоне без удобрений численность микромицетов была минимальной – 18.9 тыс. КОЕ. Последствие удобрений, вносимых под сахарную свеклу, стимулировало развитие микроскопических грибов на 20-43%. Их родовая структура представлена *Penicillium* (33%), *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* (27-37%), *Trichoderma* (20-30%), остальные – менее 10%.

В посевах зерновых культур происходит перегруппировка структуры микромицетов в сторону увеличения их родового разнообразия. Наряду с сокращением численности *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, отмечается увеличение доли рода *Trichoderma*, что положительно сказывается на функционировании микробного сообщества почвы.

## **ПЛАЗМИДНЫЙ СОСТАВ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ, НОДУЛИРУЮЩИХ ЧИНУ ВЕСЕННЮЮ *LATHYRUS VERNUS* (L.) BERNH**

*Благова Д.К., Баймиев А.Х.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики  
Уфимского научного центра РАН, Уфа  
E-mail: baymiev@anrb.ru

Известно, что немаловажную роль в становлении азотфиксирующего симбиоза между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями играют гены, локализованные на внехромосомных элементах. Поэтому при исследовании разнообразия клубеньковых бактерий необходимо учитывать не только их филогению, но и плазмидный состав. Во многом именно наличие тех или иных плазмид в бактерии определяет такие важнейшие ее свойства как выбор растения-хозяина, вирулентность и эффективность азотфиксации. Только исследование разнообразия симбиотических плазмид, определение их групп совместимости и распространение в популяциях почвенных микроорганизмов позволит создать правильную классификацию ризобий, учитывающую не только их происхождение, но и приобретенные с плазмидами признаки.

Ранее в лаборатории молекулярной биологии и нанобиотехнологии ИБГ УНЦ РАН были исследованы клубеньковые бактерии, вступающие в симбиоз с чинной весенней, произрастающей в различных районах Республики Башкортостан (РБ). Было обнаружено, что исследуемые штаммы клубеньковых бактерий при филогенетической однородности характеризуются высоким полиморфизмом ДНК.

Одним из объяснений данного явления может стать различие в плазмидном составе исследуемых штаммов. С целью проверки данного предположения было проведено изучение плазмидного состава бактерий. Плазмидные профили анализировали модифицированным методом Экхардта. Разделение крупных плазмид проводили в низкопроцентном агарозном геле с применением инвертора электрического тока. Было обнаружено, что исследуемые штаммы клубеньковых бактерий характеризуются наличием от 2 до 8 плазмид размером от 150 до 1500 т.п.н. При этом набор и характер распределения плазмид по размерам позволяет предположить достаточно большое влияние внехромосомной ДНК на общий полиморфизм ДНК. Значительное плазмидное разнообразие штаммов, нодулирующих один вид растения наводит на мысль о довольно высокой частоте генетической рекомбинации внутри ризосферных бактерий, приводящей к появлению большого количества высокополиморфных по ДНК штаммов, способных вступать в симбиоз с определенным видом растения.

## ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВ, СПЕЦИФИЧНЫХ ДЛЯ ГЕНЕРАТИВНЫХ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ КСИЛОТРОФНОГО БАЗИДИОМИЦЕТА *LENTINUS EDODES* (BERK.) SING

Ветчинкина Е.П., Селиванов Н.Ю., Никитина В.Е.

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: [elenavetrus@yandex.ru](mailto:elenavetrus@yandex.ru)

Базидиомицет *Lentinus edodes* (Berk.) Sing (шиитакэ) является ценным сырьем для получения ряда высокоэффективных медицинских препаратов и биологически активных добавок. Кроме того, интерес к данной культуре обусловлен большой пищевой ценностью и вкусовыми качествами плодовых тел. Немаловажным является и тот факт, что шиитакэ относится к деструкторам древесины и для его культивирования можно использовать отходы лесной и деревообрабатывающей промышленности.

Вопрос о возможной оптимизации искусственного выращивания ценных съедобных ксилотрофов до настоящего времени полностью не решен. Знание способов биологического воздействия на процессы развития грибов для ускорения их плодообразования может стать решением данной проблемы. Так, исследование полипептидного спектра в связи с регуляцией роста и морфогенеза, выявление специфических белков, сопутствующих процессу образования плодовых тел, и их участие в особенностях цитодифференцировки грибов, представляют большой интерес.

Биохимический анализ биополимеров клеток на стадии, предшествующей плодоношению *L. edodes*, выявил наличие набора специфических белков, обладающих выраженной функциональной активностью и отсутствующих на других стадиях развития базидиомицета. Наиболее характерными являются белки молекулярной массой 94 и 97 кДа, а также 70, 80, 110, 130 и 150 кДа. Из них три белка, молекулярной массой около 100 кДа каждый, являются оксидазами и обладают лакказной активностью. Предположительно, фенолоксидазы, необходимые ксилотрофам для разрушения лигниновых компонентов древесины, могут также принимать участие в процессе морфообразования.

Также нами были выявлены лектины, характерные только для данного этапа развития грибной культуры. Показано, что белки молекулярной массой около 130 и 150 кДа являются гемагглютинаинами, специфичными к L-D-меллибиозе. Возможно, что переход к генеративным стадиям развития базидиомицета регулируется присутствием и активностью в клеточных структурах маркерных молекул, обладающих выраженной углеводной специфичностью. Кроме того, ряд исследований говорит о том, что лектины играют важную роль в регуляции деятельности ферментных систем.

Появление определенных функциональных белков перед стадией плодоношения может свидетельствовать о важной роли данных молекул в инициации и формировании базидиом *L. edodes*.

## СТРУКТУРНЫЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ВОДНОЙ КОЛОНКИ ОЗЕРА РАДОК, ВОСТОЧНАЯ АНТАРКТИДА

*Карлов Д.С., Чувочина М.С., Алехина И.А., Булат С.А.*

Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН, Гатчина  
E-mail: makondo07@gmail.com

Целью исследования было оценить микробное содержание и разнообразие в водной колонке оз. Радок, Восточная Антарктида. Материалом исследования послужили 2 образца, взятые с поверхности и у дна в самой глубокой точке озера (R1 – 1.3 м; R367 – 367 м). Для амплификации бактериальных генов 16S рРНК использовали геномную ДНК и три праймерные системы на переменные области гена *v3-v5*, *v4-v8* и полноразмерный ген. Озеро Радок представляет собой холодный (не выше 1°C) олиготрофный пресный глубоководный водоем, практически весь год покрытый льдом. В целом по объединенным данным всех трех праймерных систем были выявлены бактерии, относящиеся к 6 разделам: *Actinobacteria* (6 филотипов), *Verrucomicrobia* (5), *Proteobacteria* ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\lambda$ ) (10), *Bacteroidetes* (6), *Candidate division OD1* (2), *Planctomycetes* (8), а также два вида оомицетов (мтДНК), два вида зеленых и два вида диатомовых водорослей. Из них явно доминировали *Actinobacteria* совместно с зелеными и диатомовыми водорослями, составляя около 33% и 27% клонов, соответственно. Как те, так и другие были примерно в равной степени представлены в верхнем горизонте, тогда как у дна *Actinobacteria* превалировали.

Выявленные два филотипа рода *Mycobacterium* (*Actinobacteria*) (11.3% клонов) были представлены по-разному в обоих образцах – *M. mucogenicum* численно доминировал на глубине, тогда как *M. vanbaalenii* – на поверхности. Представители *Planctomycetes* (~8% клонов) были выявлены в основном на поверхности – три из четырех доминантных ( $\geq 3$  клонов) филотипов во главе с *Blastopirellula sp.* (96% сходства). Неизвестный представитель *Chlamydomonas* (84% сходства; зеленые водоросли, ~23% клонов) был в основном встречен на поверхности. Интересно, что выявленный видовой комплекс *Candidatus Planktophila limnetica* (~97% сходства) из *Actinobacteria* составил около 21% клонов и состоял из трех подвигов. Два из них (*acI-AVI* и *acI-AIV* клады) были представлены повсеместно, но с численным превосходством *acI-AVI* клады, тогда как третий, относящийся к неопределенному кладу той же *acI-A* подгруппы, – только в придонном горизонте. Таким образом, полученные данные свидетельствуют как о выраженной микробной стратификации водной колонки озера Радок, вызванной в основном меняющимися с глубиной интенсивностью и спектральными характеристиками светового потока (через 1-3 м слой льда), а также поверхностным притоком пресной воды в результате таяния ледника Приозерный.

Данное исследование поддержано грантом РФФИ 07-04-00646\_a (С.А. Булат).

## **ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТОВ АССОЦИАТИВНЫХ БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* С ИЗМЕНЕНИЯМИ В СОЦИАЛЬНОМ ПОВЕДЕНИИ**

*Ковтунов Е.А., Петрова Л.П., Шелудько А.В., Кацы Е.И.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: kovtunovea@mail.ru

В конце XX века произошел переход от традиционного представления о бактерии как одноклеточном организме к представлению о микробных сообществах как целостных структурах, регулирующих свои поведенческие реакции в зависимости от условий среды обитания. Почвенные бактерии *Azospirillum brasilense* обладают гибким метаболизмом и способны вступать во взаимовыгодные ассоциативные взаимоотношения с широким кругом растений. На клетках *A. brasilense* могут образовываться разнообразные двигательные органеллы, с помощью которых, а также полисахаридных компонентов клеточной поверхности и иных средств межклеточной коммуникации и микромодификации внешней среды, азоспириллы заселяют новые территории и корни растений. Одним из способов колонизации поверхностей является роение бактерий, то есть зависящее от работы жгутиков, межклеточных контактов и продукции сурфактантов, роль которых могут выполнять поверхностные полисахариды (ППС), согласованное перемещение по различным средам.

Целью данной работы было обогащение библиотеки мутантов *A. brasilense* Sp245 новыми инсерционными мутантами по образованию жгутиков, социальной подвижности, продукции ППС. В качестве искусственного транспозона использовали Omegon-Km. Для отбора мутантов с нарушениями подвижности использовали метод укола в полужидкий агар, с дальнейшей регистрацией образования «колец роения». Наличие кольца роения и его диаметр отражают подвижность в полужидкой среде, где преимущественную роль играют латеральные жгутики. Способность мутантов продуцировать функционирующий полярный жгутик оценивали по подвижности клеток в жидкой питательной среде посредством световой микроскопии. Затем клетки неподвижных клонов проанализировали с использованием просвечивающей электронной микроскопии. В результате были отобраны четыре полностью неподвижных мутанта. Также отобраны два мутанта, имеющие ослизненный (S) фенотип, один из которых неподвижен. Обогащенная библиотека мутантов будет использована для клонирования и секвенирования генетических локусов, мутагенез которых приводит к определенным изменениям в фенотипе бактерий; для идентификации кодирующих последовательностей и характеристики предполагаемых продуктов их трансляции. Выполнение этой работы должно способствовать получению новых данных о регуляции социальной подвижности микроорганизмов.

## **БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ ПОД РАСТЕНИЯМИ ГРЕЧИХИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ БИОУДОБРЕНИЙ**

*Котова К.Н., Наплекова Н.Н.*

Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск

E-mail: [cat\\_k@ngs.ru](mailto:cat_k@ngs.ru)

Лесостепь Приобья находится в зоне рискованного земледелия. Истощение гумусового слоя почв за период освоения негативно проявляется на продуктивности сельскохозяйственных растений. Одним из путей повышения почвенного плодородия является рациональное использование отходов животноводства и осадков сточных вод для усиления деятельности микробных сообществ почвы. Биологическую активность можно также повышать, применяя микробные препараты ЭМ-Биотехнологии. Гречиха имеет слабую корневую систему и высокие урожаи можно получать только на почвах, богатых органическими и минеральными веществами.

Цель исследования – определить рациональность использования осадка сточных вод, компоста из конского навоза, приготовленного по ускоренной технологии, навоза крупного рогатого скота, птичьего помета, а также микробного препарата «БакСиб» для сохранения биоразнообразия микробных ассоциаций серой лесной почвы под гречихой.

Задачами исследований являлись: 1. Оценить биологическую активность почвы в зависимости от вида внесенного удобрения. 2. Изучить влияние почвенных биоресурсов при использовании разных видов органических удобрений на продуктивность и качество растений гречихи как модельной культуры.

Микроделяночные опыты проводили в 2003-2007 гг. на участке опытного поля Новосибирского государственного аграрного университета «Сад мичуринцев» на серой лесной почве среднесуглинистого гранулометрического состава, содержание гумуса 3%.

Результаты исследований показали, что бактериализация семян с совместным внесением в почву органических удобрений, таких, как осадок сточных вод (20 т/га), навоз крупного рогатого скота (20 т/га) и компост из конского навоза (20 т/га), увеличивает содержание сапрофитных микроорганизмов в 1.5-5.0 раз. В контроле бактерии, усваивающие органический азот, составили – 8.0-8.8 млн., усваивающие минеральный азот – 70.0-12.0 млн. КОЕ/г; *Azotobacter* – 43-52%, целлюлозоразрушающие микроорганизмы – 96-100%, что благоприятно отражается на биологической активности почвы, ее фитосанитарном состоянии и урожайности гречихи. Если сравнивать среднюю урожайность с 2003 г. по 2007 г., максимальная прибавка получена в вариантах с совместным внесением органических удобрений и «БакСиб». Применяемые удобрения увеличивают биоразнообразие состава микробных ассоциаций серой лесной почвы под гречихой.

## **БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИСПОЛЬЗУЮЩИХ МИНЕРАЛЬНЫЙ И ОРГАНИЧЕСКИЙ АЗОТ В ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЕ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ УДОБРЕНИЙ**

*Кукишева А.А., Наплекова Н.Н.*

ФГОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет»

E-mail: [proffesor8484@mail.ru](mailto:proffesor8484@mail.ru)

Функционирование агроэкосистемы предполагает наличие постоянной антропогенной нагрузки на составляющие ее компоненты, которая может быть разной по интенсивности и продолжительности. Почва – главный компонент агроэкосистем, функционирование которой во многом обусловлено деятельностью микроорганизмов. Важнейшее свойство микробного комплекса почвы – сохранять и поддерживать значения своих параметров и структуры в пространстве и времени, качественно не меняя характер функционирования.

Цель исследования – определение влияния длительного применения удобрений на микробный состав микроорганизмов, использующих минеральный и органический азот в дерново-подзолистой почве.

Объектом исследования послужила дерново-подзолистая почва Нарымской ГСС Томской области. Для изучения была взята почва трех вариантов: 1) контроль (почва без внесения удобрений); 2) (NPK)<sub>120</sub>; 3) (NPK)<sub>90</sub>+40 т/га навоза. Образцы почвы были отобраны в июне 2006 и 2008 гг.

Установлено, что в дерново-подзолистой почве в слое 0-20 см общая численность микроорганизмов в контроле составила 6.32 млн. (2006 г.), 14.64 млн. (2008 г.) в 1 г почвы. Из них преобладали бактерии – 83.9-90.2%, актиномицеты составили – 15.8-9.6%, грибы – 0.3-0.2%.

Внесение в почву удобрений достоверно увеличивает численность всех групп микроорганизмов в 1.2-2.5 раза по сравнению с контролем. При этом среди микроорганизмов, использующих минеральные формы азота, увеличилась доля актиномицетов, их численность в варианте с (NPK)<sub>90</sub>+40 т/га навоза составляла от 10.4 до 21.8% от общей численности организмов, что значительно выше их содержания в контроле (4.3-15.8%). Из них доминировали формы с белым и серым воздушным мицелием и желтой, синей и красной окраской субстратного мицелия.

Среди микроорганизмов, использующих органический азот, преобладают неспорозные формы. Длительное совместное внесение органических и минеральных удобрений привело к увеличению численности бацилл до 11.6% от численности микроорганизмов на МПА (в контроле – 9.5%). Внесение удобрений изменило соотношение бацилл-аммонификаторов в дерново-подзолистых почвах: *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus idosus*, *Bacillus agglomeratus*.

## ПОДБОР ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ДЛЯ ХРАНЕНИЯ ШТАММА *АСЕТОБАКТЕР АСЕТИ* БИМ В-520

*Никитин Д.Н., Ладутько Е.И., Новик Г.И.*

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

E-mail: niden2005@mail.ru

Разработка эффективных методов консервации для последующего длительного хранения культур микроорганизмов – объектов биотехнологии, представляет практический и теоретический интерес, поскольку биотехнологические производства нуждаются в жизнеспособных и стабильных по биотехнологическим показателям культурах. Для более эффективного поддержания жизнеспособности и сохранения физиологических свойств биотехнологически важных штаммов бактерий из фонда Белорусской коллекции микроорганизмов актуален индивидуальный подбор оптимальных методов долгосрочного хранения.

Изучена выживаемость бактерий *Acetobacter aceti* после лиофилизации и низкотемпературной консервации с применением различных протекторных сред. В работе использовался штамм *Acetobacter aceti* БИМ В-520 из Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов. В качестве защитной среды при лиофилизации бактерий использовали 10% обезжиренное молоко, 10% и 25% сахарозу. Криоконсервация (замораживание при  $-70^{\circ}\text{C}$ ) выполнена с использованием в качестве криопротекторов: 10% и 25% сахарозы, 20% глицерина. Культура после лиофилизации и криоконсервации реактивирована в модифицированной среде с этанолом и уксусной кислотой, проверена ее чистота и аутентичность. Состав модифицированной среды (г/л):  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  – 1.0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1.0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 1.0; дрожжевой экстракт – 10; уксусная кислота – 10 мл; этанол – 20 мл.

Установлено, что при использовании 10% сахарозы в качестве защитной среды жизнеспособность бактерий после лиофилизации и криоконсервации остается на достаточно высоком уровне: титр клеток (КОЕ/мл) до консервации составил  $\sim 1.2 \cdot 10^9$ , после лиофилизации  $\sim 1.0 \cdot 10^8$  и криоконсервации  $\sim 3.7 \cdot 10^8$ . Использование в качестве защитных сред 10% обезжиренного молока и 25% сахарозы приводило к значительному снижению титра жизнеспособных клеток ( $\sim 10^6$ - $10^7$  КОЕ/мл) после лиофилизации и криоконсервации штамма *Acetobacter aceti* БИМ В-520. Таким образом, лиофилизация и низкотемпературная консервация с использованием в качестве защитной среды 10% сахарозы могут использоваться как оптимальные методы для сохранения высокой жизнеспособности штамма *Acetobacter aceti* БИМ В-520.

## **ДИНАМИКА СООБЩЕСТВА ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ОТВЕТ НА ЗАСОЛЕНИЕ**

*Петрова С.Н.<sup>1</sup>, Андронов Е.Е.<sup>2</sup>, Першина Е.В.<sup>2</sup>, Пинаев А.Г.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Орловский аграрный университет, Орел

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург  
E-mail: [pershina.elizaveta@yandex.ru](mailto:pershina.elizaveta@yandex.ru)

В современном мире все более актуальной становится проблема почвенного засоления. Ежегодно значительное количество сельскохозяйственных угодий выходит из оборота в связи с засолением почвы, которое, как правило, возникает в результате проведения мелиоративных мероприятий. Также в последнее время все большее значение приобретает проблема засоления городских газонных почв, возникающего в процессе использования солесодержащих противогололедных смесей. В связи с этим в данном исследовании был поставлен модельный опыт по искусственному засолению дерново-подзолистой почвы. В качестве соли был использован хлористый натрий в концентрации 1.3 и 10%. В опыте впервые производилась комплексная оценка динамических изменений в составе трех основных компонентов почвенного микробного сообщества – бактерий, архей и грибов. Материалом для исследования служили образцы почвенной ДНК, которые анализировались с использованием современных методов молекулярной биологии – T-RFLP и количественной ПЦР. Обработка полученных экспериментальных данных осуществлялась с применением многофакторного анализа.

При изучении таксономической структуры почвенной микробиоты были зафиксированы заметные сдвиги в видовом составе, как в бактериальном сообществе, так и среди грибов и архей. При этом зафиксированные динамические изменения были специфичны для каждой из трех концентраций соли, что может свидетельствовать о наличии в почве микроорганизмов, использующих различные экологические стратегии солеустойчивости.

*Работа поддержана грантом РФФИ 09-04-00386-а.*

## **ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ И ФИЛОГЕНИЯ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ, ВСТУПАЮЩИХ В СИМБИОЗ С ДИКОРАСТУЩИМИ РАСТЕНИЯМИ РОДА ЧИНА (*LATHYRUS*), ПРОИЗРАСТАЮЩИМИ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН**

*Птицын К.Г., Баймиев Ан.Х., Баймиев Ал.Х.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики  
Уфимского научного центра РАН, Уфа  
E-mail: Konstantin157@yandex.ru

Были исследованы бактерии, вступающие в симбиоз с дикорастущими растениями рода чина (*Lathyrus*), произрастающими на территории Республики Башкортостан (РБ).

Была собрана коллекция бактерий из 555 штаммов, вступающих в симбиоз с растениями чины бледноватой, чины Гмелина, чины гороховидной, чины болотной, чины лесной, чины клубненосной, чины весенней, чины Литвинова и чины луговой, собранных из клубеньков растений, произрастающих в Кушнареновском, Альшеевском, Благовещенском, Зианчуринском, Туймазинском, Уфимском, Белорецком, Татышлинском, Аскинском районах РБ.

Гетерогенность определяли методом RAPD анализа. Филогенетический анализ проводили методом сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК.

Обнаружено, что с растениями рода чина вступают в симбиоз бактерии, отличающиеся высоким полиморфизмом ДНК, что говорит о гетерогенности данных штаммов. Но, тем не менее, сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК исследуемых штаммов с аналогичными последовательностями, взятыми из международного банка данных нуклеотидных последовательностей GenBank, показал, что штаммы являются филогенетически близкими. Показано, что высокий полиморфизм в основном связан с разным плазмидным составом бактерий. По последовательности генов 16S рРНК в основном клубеньковые бактерии оказались близки к *Rhizobium leguminosarum*, являющимся типичными для данного рода растений.

Но наряду с этим были также обнаружены клубеньковые бактерии, считавшиеся раньше для данных растений нетипичными. Например, в Татышлинском районе РБ из клубеньков чины весенней были получены бактерии по последовательности 16S рРНК, близкие к виду *Rhizobium tropici*, обычно являющиеся симбионтом фасоли обыкновенной. У чины болотной были обнаружены клубеньковые бактерии, близкие к *Agrobacterium tumefaciens*.

## СТИМУЛЯЦИЯ РОСТА ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ ШТАММАМИ АЗОСПИРИЛЛ РАЗЛИЧНЫХ СЕРОТИПОВ

*Филиппечева Ю.А.<sup>1</sup>, Бурьгин Г.Л.<sup>2</sup>, Матора Л.Ю.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

<sup>2</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: gena@ibppm.sgu.ru

Почвенные азотфиксирующие бактерии рода *Azospirillum* являются модельным объектом в исследовании феномена ассоциативности благодаря их способности увеличивать продуктивность сельскохозяйственных растений; при этом данные бактерии не проявляют жесткой специфичности по отношению к растению-хозяину и являются основными колонизаторами корней многих растений.

Целью данной работы было изучение серологического разнообразия и рост-стимулирующей активности по отношению к проросткам пшеницы коллекционных штаммов азоспирилл.

Были проведены исследования иммунохимических свойств поверхностных антигенов 60-ти штаммов азоспирилл, относящихся к семи видам: *A. amazonense*, *A. brasilense*, *A. doebereinae*, *A. irakense*, *A. lipoferum*, *A. picis* и *A. thiophilum*. Родоспецифичные антитела, полученные на интактные клетки типового штамма *A. brasilense* Sp7, выявляли в экстрактах наружных мембран всех исследованных штаммов консервативные термолабильные белковые антигены. По характеру взаимодействия с О-специфичными антителами каждый из видов *A. brasilense* и *A. lipoferum* был разделен на 4 серологические группы. При этом в каждом из этих видов были выявлены несколько штаммов, не имеющих антигенных перекрестов с О-антигенами модельных штаммов, но взаимодействующих с родоспецифичными антителами (т.н. «нереагирующие» штаммы). Для видов *A. brasilense* (33 штамма) и *A. lipoferum* (19 штаммов) предложена система серотипирования, основанная на способности и характере взаимодействия липополисахаридов с антителами к О-антигенам 5 модельных штаммов азоспирилл.

Была выявлена корреляция между рост-стимулирующей активностью по отношению к проросткам пшеницы *Triticum aestivum* cv. Саратовская 29 и серологическими свойствами О-антигенов азоспирилл. В частности, инокуляция бактериями серотипа III (JM125A2 и Sp59b) и «нереагирующими» штаммами видов *A. brasilense* и *A. lipoferum* ( $10^9$  кл./мл) приводила к максимальному для всех использованных штаммов возрастанию сухой массы растений.

Таким образом, показано широкое разнообразие азоспирилл по антигенным свойствам, очевидно, влияющим на успешность формирования растительно-микробного симбиоза.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ НЕКОТОРЫХ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ, НОДУЛИРУЮЩИХ ЧИНУ ВЕСЕНнюю *LATHYRUS VERNUS* (L.) *BERNH*

*Халитова Л.Х., Баймиев А.Х.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики  
Уфимского научного центра РАН, Уфа  
E-mail: baymiev@anrb.ru

Была исследована первичная структура симбиотических генов штаммов, нодулирующих чину весеннюю и проведен их сравнительный анализ с уже известными нуклеотидными последовательностями, взятыми из международного банка данных нуклеотидных последовательностей GenBank.

В качестве кандидатов были выбраны следующие гены: *NifD*, *NifH*, *NodA*. К консервативным участкам генов *NifD* и *NifH* были подобраны специфичные праймеры, универсальные для всех видов клубеньковых бактерий. В случае с геном *NodA* подобрать универсальные праймеры не представлялось возможным ввиду высокой вариабельности данного гена. В связи с этим были подобраны несколько пар видоспецифичных праймеров к *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, *Rhizobium tropici*, *Mesorhizobium* spp, *Sinorhizobium* spp, *Bradyrhizobium* spp.

В качестве объектов исследований были выбраны 4 штамма, относящиеся по последовательности гена 16S рПНК к *Rhizobium tropici*, 2 штамма *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* и 4 штамма *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*. Все штаммы имели отличающиеся друг от друга RAPD-профили.

Сравнительный анализ амплифицированных и секвенированных фрагментов генов *NifD* и *NifH* показал высокую гомологию между нуклеотидными последовательностями внутри генов у всех исследуемых штаммов. Последовательности анализируемых генов *Rhizobium tropici* и *Rhizobium leguminosarum* отличались лишь некоторыми единичными несовпадениями в нуклеотидной последовательности. Поиск сходных последовательностей в базе данных генов с помощью программы «Blast» показал, что секвенированные фрагменты как гена *NifD*, так и гена *NifH* всех исследуемых штаммов клубеньковых бактерий имеют высокую гомологию с аналогичными последовательностями бактерий вида *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. Для исследования гена *NodA* штаммов был проведен ПЦР-анализ ДНК образцов с использованием подобранных ранее видоспецифичных праймеров. Анализ показал, что у всех образцов ПЦР продукт нужного размера нарабатывается только при использовании праймеров, подобранных к гену *NodA* *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. Исходя из полученных данных, можно сделать предположение, что штаммы *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* и *Rhizobium tropici* приобрели определенный набор симбиотических генов вследствие горизонтального переноса генов.



# СЕКЦИЯ 2

**АДАПТАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ И РАСТЕНИЙ  
К ДЕЙСТВИЮ БИОТИЧЕСКИХ И АБИОТИЧЕСКИХ  
ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

## ДЕЙСТВИЕ УЗКОПОЛОСНОГО ОСВЕЩЕНИЯ НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ САЛАТА

*Аверчева О.В., Птушенко В.В., Таранов Е.А., Быкова Е.А.*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва  
E-mail: venik@lighters.ru

Спектральный состав падающего света является одним из важнейших факторов среды, регулирующих жизнедеятельность растения. Через систему фоторецепторов свет оказывает регуляторное действие на структуру и функциональную активность фотосинтетического аппарата (ФСА), определяет фотоморфогенез и фотопериодические реакции. Фотоны различных длин волн обладают разной фотосинтетической эффективностью. За последние годы широкое распространение получили новые узкополосные источники освещения – светоизлучающие диоды (СД). Они обладают узкополосным спектром испускания в определенной спектральной полосе. Существующие в настоящее время разновидности СД способны излучать световые кванты практически в любой части видимого спектра. Это делает их удобным инструментом для исследования воздействия отдельных спектральных полос на жизнедеятельность растений. Кроме того, в силу своих технических преимуществ они являются перспективным источником освещения для светокультуры растений.

Мы исследовали состояние ФСА и продуктивность растений салата-латука (*Lactuca sativa* L.) сорта «Рапсодия», выращенных при освещении облучателем на основе СД. Контролем служили растения, выращенные при освещении люминесцентными лампами. Растения выращивали при трех спектральных составах освещения: красные (660 нм) и синие (450 нм) СД; красные и синие СД с добавлением зеленых (535 нм); красные и синие СД с добавлением желтых (590 нм). У растений, выращенных под светодиодным светильником, по сравнению с контролем на 25-30% ниже содержание хлорофилла (Хл) в пересчете на единицу массы листа. Однако площадь листа у растений, выращенных под СД, была в 2-2.5 раза выше, что указывает на больший размер ФСА у этих растений. Квантовый выход работы ФС II, измеренный методом регистрации флуоресценции Хл, был несколько снижен при освещении красными и синими СД без добавления фотонов других длин волн. Спектр падающего света не оказал существенного влияния на фотохимическое и нефотохимическое тушение флуоресценции Хл. В целом можно говорить о незначительном влиянии спектра падающего света на формирование ФСА растений салата. При этом съедобная масса растений, выращенных под СД, была выше, чем в контроле.

Авторы выражают благодарность фирме «Контракт Электроника» за предоставленный облучатель на основе светодиодов.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЙ БАКТЕРИИ *ENTEROBACTER NIMIPRESSURALIS* 32-3 К СТРЕССОВОМУ ДЕЙСТВИЮ ПРОТРАВИТЕЛЕЙ СЕМЯН**

*Баранская М.И., Чайковская Л.А.*

Южная опытная станция Института сельскохозяйственной микробиологии  
НААН, Симферополь  
E-mail: baranskaya@rambler.ru

Бактериальные экзополисахариды (ЭПС) – это высокомолекулярные экзогенные продукты метаболизма микроорганизмов, большинство которых имеет способность к синтезу этих соединений.

Учитывая широкий спектр действия ЭПС и их влияние на адаптивные характеристики организмов, целесообразно было провести исследования по изучению способности фосфатмобилизующей бактерии *E. nimipressuralis* 32-3 (основа биопрепарата Фосфоэнтерин) к синтезу этих соединений.

Результаты наших экспериментов свидетельствуют о том, что штамм *E. nimipressuralis* 32-3 в процессе жизнедеятельности продуцирует вещества, принадлежащие к ЭПС. Количественное определение ЭПС при культивировании штамма на среде МПА показало, что суточная культура синтезирует 22.8 мкг/л этих соединений. Через двое суток культивирования их количество возросло на 13 мкг/л и составило уже 35.8 мкг/л. Поскольку технология изготовления биопрепарата Фосфоэнтерин предусматривает культивирование *E. nimipressuralis* 32-3 в жидкой среде в течение двух суток, дальнейшее определение количества ЭПС не проводили.

Из литературных источников известно, что ЭПС образуют на поверхности бактерии плотный слой, который нивелирует действие стрессовых факторов: защищают клетки продуцента от высоких и низких значений pH, повышенной температуры, высушивания, замораживания, от действия детергентов и тяжелых металлов.

Учитывая это, целесообразно было определить резистентность клеток *E. nimipressuralis* 32-3 к современным протравителям семян, в частности тех, которые применяют в технологиях выращивания зерновых, поскольку Фосфоэнтерин используют для предпосевной бактеризации семян злаковых культур. Мы остановили свой выбор на фунгицидах: Витавакс 200 ФФ, Ламардор FS 400, Раксил Экстра. При определении стойкости штамма к данным пестицидам методом лунок не выявлено зон угнетения роста бактерии. Однако результаты, полученные в условиях глубинного культивирования, показали, что данные фунгициды проявляют умеренное бактериостатическое действие на жизнеспособность клеток *E. nimipressuralis* 32-3.

Итак, проведенные исследования свидетельствуют о том, что бактерия *E. nimipressuralis* 32-3 обладает способностью к синтезу ЭПС, которые могут влиять на адаптивные реакции штамма. Полученные результаты представляют перспективу для дальнейших исследований по изучению устойчивости клеток *E. nimipressuralis* 32-3 к протравителям.

## ГЕНОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МЕТАБОЛИТОВ МИКОПЛАЗМ

*Баязитова А.А., Гуляев П.Е., Маргулис А.Б.*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

E-mail: Anna.Margulis@ksu.ru

Адаптация микоплазм к неблагоприятным условиям среды связана с переходом вегетативных форм клеток в жизнеспособные, но не культивируемые формы. Очевидно, что переход в покоящееся состояние может происходить под влиянием различных факторов, наряду с универсальными чертами обладать какими-то особенностями и уникальными механизмами регуляции. Предполагают, что происходят морфофизиологические перестройки и изменения биохимического состава клеточной поверхности, в связи с чем могут усиливаться адгезивные свойства, что приводит к накоплению на поверхности клетки метаболитов и компонентов среды, что в совокупности может привести к увеличению токсического и генотоксического потенциала клеток.

В связи с вышесказанным, целью нашей работы явилась оценка возможности индукции мутаций продуктами метаболизма клеток *Mycoplasma hominis* после воздействия различных стрессовых факторов (обработка перекисью водорода, воздействие теплового шока и истощение питательных веществ при длительном культивировании).

Были получены следующие результаты: разрушенные вегетативные клетки *M. hominis*, обработанные перекисью водорода, не обладали генотоксическими свойствами ( $IF < 2$ ). Клетки *M. hominis* после воздействия теплового шока обладали слабыми генотоксическими эффектами, что было зафиксировано в стандартном SOS-хромостесте, и фактор индукции SOS-ответа (IF) составил 3.5 единицы. Клетки *M. hominis* после длительного культивирования индуцировали SOS-ответ у тестерного штамма *E. coli* PQ37 ( $IF = 6$ ). Можно предположить, что генотоксический потенциал клеток зависит от строения и физиологического статуса клетки. Молекулярные аспекты изменения генотоксических эффектов клеток микоплазм остаются не выясненными.

*Работа поддержана ГК 02.512.12.2010.*

## РОЛЬ ГОМОСЕРИНЛАКТОНА В ОТВЕТЕ СТАФИЛОКОККА НА СТРЕСС

Белоногова Н.В., Кудрявцева Д.Н., Бушманова О.В., Маргулис А.Б.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

E-mail: Anna.Margulis@ksu.ru

Золотистый стафилококк часто входит в состав нормальной микрофлоры человека. Носителями стафилококка являются 15-30% клинически здоровых лиц, причем встречается как ограниченное неделями или месяцами носительство, так и хроническое носительство, типичное для персонала медицинских учреждений и некоторых пациентов. Подавляющее число стафилококковых инфекций носит эндогенный характер, связанный с активацией аутомикрофлоры. Этот факт подчеркивает безусловную важность исследований, связанных с возможностью направленной регуляции интенсивности жизнедеятельности такого рода бактерий. Становится все более очевидным, что класс соединений ацилированных лактонов гомосерина (АГЛ) проявляет свое действие на биологических и экологических уровнях организации. Несмотря на тот факт, что производят АГЛ немногие роды прокариот, представители этих родов широко распространены в окружающей среде и представляют большой интерес для человека. Целью настоящей работы явилось выяснение механизмов устойчивости *Staphylococcus aureus* к стрессу при действии ацилированного гомосеринлактона. В ходе работы было показано, что тепловой шок (ТШ) 60°C (15 минут) приводит к частичному разрушению клеток стафилококка. ТШ 45°C с предварительной обработкой АГЛ вызывает более раннее наступление стационарной фазы роста культуры, что, вероятно, связано с накоплением токсичных метаболитов. Анализ данных показал, что обработка культуры *S. aureus* N-гексаноил-DL-гомосеринлактоном способствует появлению генотоксических метаболитов, как внутриклеточных, так и внеклеточных. Двухчасовая предынкубация с гексаноил-гомосеринлактоном приводила к повышению генотоксичности метаболитов в 2.5-3 раза. Однако обработанные ГСЛ стафилококки после воздействия теплового шока обладали менее выраженной генотоксичностью. Возможно, это связано с тем, что генотоксические метаболиты, индуцированные данным гомосеринлактоном, разрушались под воздействием ТШ. Также двухчасовая предобработка стафилококка гомосеринлактоном перед ТШ не влияла на лецитиназную активность, но приводила к повышению устойчивости протеаз к тепловому шоку 60°C и к повышению чувствительности гемолизина к действию ТШ, за счет чего ингибировалась гемолитическая активность. Таким образом, ацилированный гомосеринлактон демонстрирует комплексное и неоднозначное воздействие на физиолого-биохимические характеристики *Staphylococcus aureus*.

*Работа выполнена в рамках программы РНП 2.1.1.1005.*

## ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ РОСТА БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM LIPOFERUM* SP59B НА СТРОЕНИЕ ИХ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ

*Бойко А.С., Суркина А.К., Коннова С.А., Федоненко Ю.П., Игнатов В.В.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: alevtinab10@mail.ru

Установлено участие липополисахаридов (ЛПС) ассоциативных ризобактерий рода *Azospirillum* в процессах межорганизменной коммуникации. Однако остается ряд вопросов, связанных с механизмом действия ЛПС. Целью данной работы было выяснить, отражаются ли различные условия роста азоспирилл на структуре ЛПС. Объектом исследования являлись ЛПС типового штамма *A. lipoferum* Sp59b (ATCC 29707, ВКМ В-1519), для которого определено строение повторяющегося звена О-специфического полисахарида при росте микроорганизмов на малатно-солевой среде [1]. Для эксперимента бактерии культивировали в течение 24 и 72 ч на средах с разными источниками углерода и азота. Соотношение С:N составляло 2:1 и 10:1. Были получены и охарактеризованы следующие препараты ЛПС: ЛПС1 – малат Na:NH<sub>4</sub>Cl 2:1, 24 ч (препарат описан в работе [1]); ЛПС2 – глюконат Na:KNO<sub>3</sub> 2:1, 24 ч; ЛПС3 – Fru:NH<sub>4</sub>Cl 10:1, 24 ч; ЛПС4 – Fru:NH<sub>4</sub>Cl 10:1, 72 ч; ЛПС5 – Fru:KNO<sub>3</sub> 10:1, 72 ч; ЛПС6 – Fru:KNO<sub>3</sub> 10:1, 24 ч.

В тесте двойной радиальной иммунодиффузии было выявлено взаимодействие ЛПС3 с антителами, специфичными к ЛПС1, а также взаимодействие всех исследуемых ЛПС, за исключением ЛПС1, с антителами, специфичными к липополисахарид-белковому комплексу (ЛПБК) *A. lipoferum* Sp59b [2]. В отличие от ЛПС1 остальные препараты ЛПС имели характерный для азоспирилл профиль жирных кислот, а ЛПС5 выделялся высоким содержанием октадекановой кислоты. Также можно отметить высокое содержание углеводов в ЛПС5 (82%) и фосфора (7%) в ЛПС2. Моносахаридный состав и характер замещения моносахаридных остатков в полисахариде (ПС) ЛПС2 и ЛПС3 были аналогичны ПС ЛПБК *A. lipoferum* Sp59b, выращенного на малате [2]. ПС ЛПС5 и ЛПС6 отличались соотношением моносахаридов. В ПС ЛПС4 были выявлены существенные изменения моносахаридного состава.

Таким образом, обнаружено, что при изменении источников азота и углерода в среде, соотношения С:N и продолжительности роста бактерии *A. lipoferum* Sp59b синтезируют ЛПС с измененной структурой полисахаридной составляющей.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 08-04-00669).*

1. Fedonenko Yu.P. *et al.* // Carbohydr. Res. – 2005. – Vol. 340. – P. 1259-1263.
2. Смолькина О.Н. с соавт. // Биохимия – 2010. – Т. 75, № 5. – С. 707-716.

## **РОСТОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ РАСТЕНИЙ САЛАТА-ЛАТУКА, ВЫРАЩЕННЫХ ПРИ ОСВЕЩЕНИИ УЗКОПОЛОСНЫМИ ИСТОЧНИКАМИ ОСВЕЩЕНИЯ**

*Быкова Е.А., Таранов Е.А., Аверчева О.В., Птушенко В.В.*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва  
E-mail: [katebykova.90@mail.ru](mailto:katebykova.90@mail.ru)

В современной светокультуре растений все большее применение находят диодные осветители, обладающие узкополосным спектром испускания в определенной части видимого спектра. В предварительных экспериментах по выращиванию растений при узкополосном освещении в красной и синей части спектра, оптимальном для фотосинтеза, выявлено, что растения обладают неоднозначной и не всегда оптимальной физиологической реакцией на данный спектральный состав. Можно предположить, что важной составляющей ответа является регуляция роста и развития растений при помощи фоторецепторов, которые отвечают на свет в дальней красной, красной, синей и, возможно, зеленой части спектра. Кроме того, для салата-латука показана негативная ростовая реакция на освещение, обогащенное желтыми лучами, что может быть частной физиологической характеристикой этого вида растений.

Мы изучали ростовые параметры растений салата-латука (*Lactuca sativa* L.) сорта «Рапсодия», выращенных при освещении светодиодами с максимумами испускания 450 нм и 660 нм во всех вариантах опытов, а также светодиодами с максимумами 535 нм (вариант CD/G) или 590 нм (вариант CD/A). В качестве контроля использовали люминесцентные лампы с широкополосным спектром испускания. У 29-30-дневных растений измеряли сырую, сухую массу и площадь каждого листа, сырую и сухую массу стебля, длину междоузлий. Длина нижних междоузлий зависела от плотности посадки растений в контейнерах. Диаграммы распределения площади и сырой массы листьев в зависимости от положения листа позволяли следить за соблюдением условий выращивания и оказались чувствительными к недостаточному поливу.

Под люминесцентной лампой большинство измеряемых параметров имели минимальные значения. В варианте CD/G большинство измеряемых параметров имели максимальные значения (например, сырая масса листьев была на  $55\% \pm 14.4\%$  больше по сравнению с контролем). Растения, выращенные под светодиодами, более чувствительны к температуре, чем растения, выращенные под люминесцентными лампами. В варианте CD/G, в частности, показано заметное влияние температуры на длину междоузлий. Подтверждено ингибирующее влияние желтого света на ростовые характеристики. При исключении освещения светодиодами с максимумом 590 нм растения салата-латука по большинству ростовых параметров имели максимальные значения.

Авторы выражают благодарность за предоставленные экспериментальные образцы осветителей фирме «Контракт Электроника».

## **ВЛИЯНИЕ ПЛАЗМИДНЫХ ПЕРЕСТРОЕК НА УРОВЕНЬ УСТОЙЧИВОСТИ АССОЦИАТИВНЫХ БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* К СОЛЯМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

*Варшаломидзе О.Э., Шелудько А.В., Петрова Л.П., Кацы Е.И.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: varshalomidze@list.ru

Для поддержания физиологических концентраций металлов микроорганизмами используются несколько механизмов: низкая восприимчивость, хелатирование и выведение (эффлюкс) металлов. В данной работе в 85-МДа плазмиде штамма *A. brasilense* Sp245 выявлены три гена, предсказанные продукты которых предположительно осуществляют эффлюкс катионов. Проведено сравнение устойчивости к солям тяжелых металлов штаммов *A. brasilense* Sp245 и Sp7 и их производных с измененным плазмидным составом. Для этого определяли минимальную ингибирующую концентрацию (МИК), то есть минимальную концентрацию соли, предотвращающую видимый рост бактерий в течение 18-24 ч инкубации. На плотной малатно-солевой среде бактерии штамма Sp245.5 (производный *A. brasilense* Sp245, утративший 85- и 120-МДа репликоны при образовании новой мегаплазмиды) выдерживали более высокие концентрации  $\text{AgNO}_3$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , чем родительский штамм. В другой серии экспериментов сравнивали влияние солей серебра, меди и кобальта на рост клеток *A. brasilense* Sp245 и Sp245.5 в жидкой среде и в жидкой среде с добавлением ингибитора эффлюкс-помп карбонилцианид-м-хлорофенилгидразона (СССР) до концентрации, не являющейся летальной (0.625 мкМ). МИК  $\text{AgNO}_3$  на жидкой среде для обоих штаммов оказалась на порядок ниже, чем на плотной. Возможно, аэрация и перемешивание усиливают влияние ионов серебра. Подобных различий для сред с  $\text{CuSO}_4$  и  $\text{CoCl}_2$  не наблюдалось. Вероятно, это объясняется более выраженной способностью двухвалентных ионов к образованию комплексов с молекулами на поверхности бактерий. В случае штамма Sp245 добавление СССР не влияло на МИК  $\text{AgNO}_3$  (0.5 мкМ), а МИК  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  или  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  снижалась с 0.9 до 0.6 мМ или с 0.4 до 0.3 мМ, соответственно. Для мутанта Sp245.5 МИК солей серебра (0.9 мкМ) и меди (5 мМ), как и на плотной среде, оказались выше, чем в случае Sp245, а в присутствии СССР эти показатели снижались до 0.6 мкМ и 0.8 мМ, соответственно. По-видимому, повышение устойчивости клеток штамма Sp245.5 к солям меди и (в меньшей степени) к солям серебра связано с активизацией процесса эффлюкса этих металлов. Большая устойчивость бактерий штамма Sp245.5 к кобальту может определяться факторами, не зависящими от эффлюкса, поскольку присутствие СССР на величину МИК  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  не влияло. У Sp245.5 изменен состав поверхностных полисахаридов, которые в первую очередь взаимодействуют с ионами, чем, возможно, объясняется отличная от штамма дикого типа устойчивость к солям кобальта и цинка. Поскольку способность бактерий штамма Sp245.5 к адсорбции на корнях пшеницы сохраняется, этот штамм перспективен для инокуляции растений в условиях загрязнения почвы тяжелыми металлами.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ РЕАКЦИИ БАКТЕРИЙ НА РАЗЛИЧНЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

*Васильченко А.С., Никиян А.Н.*

Оренбургский государственный университет, Оренбург

E-mail: [avasilchenko@gmail.com](mailto:avasilchenko@gmail.com)

Благодаря возможности исследования биологических объектов с нанометровым разрешением при минимальном воздействии на исходную структуру образца, атомно-силовая микроскопия (АСМ) представляется новым перспективным методом проведения микробиологических исследований. В частности, целью настоящей работы стало использование АСМ для исследования механизмов и последствий действия различных абиотических и биотических факторов на морфологические и механические свойства клеток *Escherichia coli* K12 TG1 и *Bacillus cereus* IP 5832.

Установлена значительно большая стабильность размерных и упругих свойств клеток модельного грам-положительного микроорганизма при снижении значений относительной влажности (ОВ) по сравнению с находящимися в тех же условиях клетками грам-отрицательного микроорганизма. Полученный результат определяет необходимость подготовки препаратов *E. coli* для АСМ при фиксированном значении ОВ = 95%, в то время как для *B. cereus* величины ОВ могут варьировать в значительно более широком диапазоне.

С использованием метода АСМ визуализирован контакт углеродных наноматериалов (УНМ) с бактериальными клетками. Показано, что биологическая активность УНМ частично определяется присутствующими в них примесными металлическими частицами, повреждающими поверхностные структуры модельных микроорганизмов. Установлено, что биологическая активность производных С60-фуллерена зависит от характера их функционализации, способного существенно повысить сродство подобных УНМ к бактериальной поверхности.

Охарактеризована гетерогенность популяции *E. coli* и *B. cereus* при воздействии суббактериостатических концентраций ампициллина. Показана зависимость регистрируемых изменений морфологических и механических свойств клеток от особенностей строения их клеточных стенок, по-разному повреждаемых под действием антибиотика.

При оценке биологической активности катионных антимикробных пептидов, представленных магаинином и экстрактом тромбоцитов человека, показано преимущественное повреждение наружной мембраны модельного грам-отрицательного микроорганизма, в том числе проявляющееся в формировании пор с различными размерными характеристиками.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой информативности АСМ при оценке действия различных веществ на живые организмы, где его использование позволяет решать задачи, недоступные для других методов исследования.

## ПОЛУЧЕНИЕ ФАГОВЫХ АНТИТЕЛ К ПОВЕРХНОСТНЫМ АНТИГЕНАМ АЗОСПИРИЛЛ

*Видяшева И.В., Староверов С.А., Гулий О.И., Игнатов О.В., Дыкман Л.А.*  
Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: [dykman@ibppm.sgu.ru](mailto:dykman@ibppm.sgu.ru)

Традиционно в иммунологических исследованиях применяют антитела, полученные при иммунизации животных (поликлональные) или на основе гибридомной технологии (моноклональные). Однако использование животных может быть невозможно, когда речь идет о низкоиммуногенных или токсичных антигенах. Для решения подобных задач используют генно-инженерные технологии клонирования узнающих фрагментов – гипервариабельных участков иммуноглобулинов (миниантител). К таким методам относится технология фагового дисплея. Джон Мак-Каферти с соавт. в 1990 г. впервые показал возможность экспрессии фрагментов антител в составе белка оболочки фага и продемонстрировал методику быстрой и эффективной селекции клонов, несущих высокоаффинные антитела. Предложенный метод не требует использования животных, длительных процедур иммунизации, дорогих сред и культур животных клеток.

Основная задача наших исследований заключалась в получении фаговых антител к поверхностным антигенам целых клеток азоспирилл при использовании овечьей фаговой библиотеки (Griffin.1, UK) и возможность их применения для изучения поверхностных клеточных структур.

Для селекции фагов, несущих антитела к антигенам *Azospirillum brasilense* Sp245, в качестве твердой фазы для закрепления антигенов использовали мембрану «Western S». Мембрану инкубировали в клеточной суспензии, после чего блокировали в растворе сухого молока и инкубировали с библиотекой. По истечении инкубации мембрану пятикратно отмывали буфером. Элюцию связавшихся фаговых частиц проводили триэтиламином. Элюированные фаговые частицы использовали для инфицирования клеток *E. coli* штамма XL1. Клетки *E. coli*, зараженные отселектированными фагами, выращивали в течение ночи в среде 2TY. 1/100 частью полученной культуры инокулировали 10 мл той же среды и растили при интенсивном встряхивании до оптической плотности  $A_{600} = 0.3$ . Затем добавляли хелперный фаг M13 K07 и инкубировали в течение часа, после чего клетки осаждали центрифугированием. Осадок клеток ресуспендировали в среде 2TY. Ночную культуру клеток центрифугировали, к супернатанту, содержащему фаговые частицы, добавляли 1/5 объема раствора PEG/NaCl. Полученный препарат фаговых частиц использовали для проведения последующих двух раундов селекции, осуществляемых по аналогичной схеме. Специфичность и чувствительность полученных пяти клонов фагов определяли методом дот-анализа и ТЭМ.

Полученные фаговые миниантитела планируется использовать при изучении поверхностных структур азоспирилл с использованием иммунохимических, микроскопических и электрооптических методов.

## **ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КОМПОНЕНТОВ ФИТОГОРМОНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА В ЛИСТЬЯХ *MESEMBRYANTHEMUM CRYSTALLINUM* L. ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЗАСОЛЕНИЯ**

*Веденичева Н.П., Войтенко Л.В., Воронай А.В., Мусатенко Л.И.*

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев

E-mail: [phytohormonology@ukr.net](mailto:phytohormonology@ukr.net)

Изучение регуляции защитных реакций растений при засолении является весьма актуальной задачей современной физиологии растений, поскольку количество засоленных вследствие искусственного орошения почв увеличивается с каждым годом, и выращивание растений с повышенной толерантностью открывает новые возможности для их успешного использования в сельском хозяйстве. Целью работы было изучение баланса эндогенных фитогормонов у растения-галофита – хрустальной травки (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) – в условиях солевого шока. Растения выращивали в водной культуре (питательная среда Джонсона) в факторостатных условиях. NaCl вносили однократно до концентрации 400 мМ, пробы отбирали через 6, 24 и 48 ч). Содержание свободных и связанных фитогормонов (АБК, ИУК, цитокининов) определяли методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1200 LC с диодно-матричным детектором G 1315 В (США), колонка Eclipse XDB-C 18 2.1×150 мм, размер частиц 5 мкм.

В листьях контрольных растений *M. crystallinum* были обнаружены относительно высокие концентрации зеатина, изопентениладенина и свободной формы ИУК. В то же время уровень зеатинрибозида, изопентениладенина и АБК был крайне низким. Засоление среды в течение 6 ч приводило к некоторому повышению содержания зеатина и связанной ИУК (примерно в 1.5 раза). Резко, в десятки раз, падал уровень изопентениладенина и свободной ИУК, а зеатинрибозида, изопентениладенина и АБК – резко повышался. Дальнейшее выдерживание растений на гиперсолевом растворе вызывало постепенное накопление зеатинрибозида, изопентениладенина, изопентениладенозина и связанной ИУК в тканях листьев. Содержание зеатингликозида было незначительным в листьях контрольных растений, и под воздействием засоления оно уменьшалось в первые сутки, а затем возвращалось на исходный уровень. Следует отметить весьма низкий уровень как свободной, так и связанной формы АБК в листьях контрольных растений. Под влиянием соли происходила незначительная аккумуляция этого гормона, однако к концу эксперимента его содержание вновь снижалось.

## **ВЛИЯНИЕ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ В ЛИСТЬЯХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ**

*Герасимова И.С.<sup>1</sup>, Любунь Е.В.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

<sup>2</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: [gis8888@mail.ru](mailto:gis8888@mail.ru)

Тяжелые металлы (ТМ) и их соединения образуют значительную группу токсикантов, во многом определяющую антропогенное воздействие на экологическую структуру окружающей среды и на самого человека, что ставит приоритетной задачу очистки почв от данных загрязнителей. Одним из способов удаления солей ТМ из биологического круговорота могут служить многие растения, аккумулирующие металлы в концентрациях, во много раз превышающих концентрацию в почве.

В этой работе был рассмотрен специфический механизм действия ТМ на фотосинтетический аппарат растений, изменения в работе которого являются одним из основных физиолого-биохимических показателей состояния растения, а именно изменение соотношения пигментов в листьях. Так как в норме соотношение хлорофиллов *a* и *b*, а также каротиноидов, в соответствии с их функциями, находится в следующей форме: хлорофилла *a* более 50%, хлорофилла *b* – около 30% и каротиноидов – менее 20%.

В своей работе в качестве объектов исследования мы выбрали суданскую траву (*Sorghum sudanense* (Piper.) Stapf.); райграс пастбищный или многолетний (*Lolium perenne* L.); рапс яровой (*Brassica napus* L.); сорго зерновое (*Sorghum safronum* L.); подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus* L.), поскольку они характерны для нашей климатической зоны. Агротехнология этих растений хорошо известна, что важно при разработке биотехнологических методов очистки почв. Как показали полученные результаты, общее содержание основных фотосинтетических пигментов на единицу площади листа растения сильно варьирует в зависимости от растения и вида загрязнения. При изученных концентрациях тяжелых металлов происходит небольшое повышение содержания общего хлорофилла всех растений, кроме рапса. Для сорго в присутствии всех исследованных загрязнителей содержание основного функционального пигмента – хлорофилла *a* оставалось на уровне контрольного.

Полученные в ходе работы данные в последующем можно использовать для проведения мониторинга за состоянием окружающей среды и для отбора устойчивых к ТМ растений.

## **КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНА ДВИНИЛЭФИРСИНТАЗЫ ЛЬНА-ДОЛГУНЦА (*LINUM USITATISSIMUM*)**

Горина С.С., Гоголева Н.Е., Гоголев Ю.В., Четкин И.Р., Гречкин А.Н.

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань

E-mail: [luzdeamor@yandex.ru](mailto:luzdeamor@yandex.ru)

Низкомолекулярные соединения, называемые общим термином оксипирины, выступают в качестве сигнальных молекул, определяющих физиологическое состояние растений, животных и микроорганизмов. Эти вещества участвуют в регуляции роста, развития, ответа на ряд биотических и абиотических стрессов у растений. Как летучие соединения, обладающие характерным запахом, ярким вкусом и высокой физиологической активностью, оксипирины во многом определяют свойства съедобных, лекарственных растений, кормовых и технических культур. Существенная роль в биосинтезе оксипиринов принадлежит цитохромам семейства CYP74. Несмотря на широкое распространение и высокую значимость данных ферментов, они остаются слабо изученными.

В листьях льна-долгунца нами были выявлены уникальные оксипирины, синтез которых может быть связан с неизвестным каскадом биохимических реакций. Предполагается, что основная роль в этом процессе принадлежит мало изученным ферментам – дивинилэфирсинтазам. В связи с этим, целью нашего исследования послужило обнаружение и характеристика гена, отвечающего за синтез дивинилэфирсинтазы льна-долгунца.

На основе аминокислотной последовательности консервативных доменов полипептидов CYP74 нами были сконструированы вырожденные праймеры, позволившие амплифицировать кДНК генов двух представителей данного семейства – алленоксидсинтазы и нового фермента с неизвестной каталитической функцией. После клонирования полноразмерной кДНК гена нового члена семейства CYP74 льна-долгунца была определена его первичная структура, проведена экспрессия кодируемого белка в бактериальном продуценте. Характеристика каталитических свойств рекомбинантного белка подтвердила его принадлежность к редким и малоизученным дивинилэфирсинтазам, обладающим двойной 9-13-региоспецифичностью. В результате проведенной работы показано, что новые оксипирины льна-долгунца не являются побочными продуктами вторичного метаболизма, а представляют собой соединения, синтезируемые специфичными ферментами липоксигеназного каскада. Дальнейшие исследования позволят выявить физиологическую роль данных метаболитов.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЯГИЛЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО (*ARCHANGELICA OFFICINALIS*) ДЛЯ ФИТОРЕМЕДИАЦИИ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ**

*Григориади А.С., Шарифуллина Е.З.*

Башкирский государственный университет, Уфа

E-mail: nysha111@yandex.ru

В настоящее время проблема ликвидации нефтяного загрязнения почвы является острой проблемой. Наиболее эффективными методами восстановления загрязненных экосистем являются биологические способы. На заключительных этапах рекультивации активно используют фиторемедиацию. Положительная роль растений в очищении почв связана с их способностью поглощать и трансформировать токсиканты, активизировать деятельность микробного сообщества, и, как следствие, интенсифицировать процессы трансформации чужеродных соединений в почве. Таким образом, важную роль в детоксикации нефтяных углеводородов может сыграть ризосфера растений, которая является областью активного развития микроорганизмов.

Целью исследования было изучение активности ризосферной микробиоты потенциального фиторемедианта – дягиля лекарственного *Archangelica officinalis* под воздействием нефтяного загрязнения. Это мезофильное растение, представитель семейства зонтичных (*Umbelliferae*), легко переносит подтопление и неблагоприятное влияние закисных соединений железа и марганца.

Особый интерес представляет собой изучение динамики углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ), так как именно эта группа принимает активное участие в деструкции компонентов нефти. Нами было показано, что загрязнение почвы нефтью стимулировало развитие популяции УОМ. Их численность в ризосфере растений увеличивалась в 30-35 раз (в условиях 3% и 6%-ного уровня нефтяного загрязнения, соответственно) по сравнению с численностью УОМ в ризосфере растений, произрастающих на чистой почве. Через 30 суток эта величина составляла 74, 141, 170·10<sup>3</sup> КОЕ/г почвы для 1, 3 и 6% загрязнения, соответственно, что в 4 раза превышало показатели, полученные при анализе растений, отобранных спустя 14 сут. с момента загрязнения. Показатели численности УОМ в ризосфере превышали соответствующие в эфафосфере в 2 раза.

Следует отметить, что микроскопические грибы также могут принимать активное участие в разложении нефтяных углеводородов. Через 30 сут. наблюдалась аналогичная динамика роста микромицетов, что и для УОМ. Численность микромицетов превышала фоновые значения в 5 раз.

Таким образом, при нефтяном загрязнении наблюдался «ризосферный эффект». Это связано, во-первых, с присутствием поллютанта в почве – основного субстрата для группы углеводородокисляющих микроорганизмов, и, во-вторых, с жизнедеятельностью самого растения.

## **РОЛЬ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ФИТОРЕМЕДИАЦИИ УГЛЕВОДОРОДСОДЕРЖАЩИХ ОСАДКОВ**

*Григорьева Т.В.*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

E-mail: [tatabio@inbox.ru](mailto:tatabio@inbox.ru)

Углеводородсодержащие осадки (шламы) неизбежно образуются на всех предприятиях нефтегазового комплекса в результате очистки промышленных сточных вод и, как правило, долгосрочно размещаются на территории предприятия в накопителях. Современные экологические биотехнологии, в том числе основанные на совместном метаболическом потенциале микроорганизмов и растений, открывают возможность для обезвреживания и утилизации данной категории отходов.

Мы впервые оценили токсичные углеводородсодержащие отходы с точки зрения принципиальной возможности выживания и функционирования сообщества азотфиксирующих микроорганизмов. Микробиологический посев на безазотистые питательные среды выявил высокую численность на уровне  $10^5$ - $10^6$  КОЕ/г сухого образца диазотрофных микроорганизмов в шламах. Среди культивируемых аэробных гетеротрофных микроорганизмов, населяющих шламы, до 90% представителей оказались потенциально способны к фиксации молекулярного азота на основании обнаружения в их геноме соответствующего маркерного гена (*nifH*). В ходе лабораторного моделирования фиторемедиации шлама величина азотфиксирующей активности в вариантах с растениями увеличивалась восьмикратно и достигала уровня более 3 мг  $N_2$ /кг·ч. Сопоставление уровня остаточных углеводородных загрязнений в вариантах с удобрениями и без них позволило оценить вклад сообщества аборигенных азотфиксаторов в обеспечение растения-мелиоранта и микроорганизмов-деструкторов доступным азотом.

Помимо способности к восстановлению атмосферного азота изоляты свободноживущих азотфиксаторов шламов оказались способны утилизировать широкий спектр компонентов отхода и обладали рост-стимулирующим потенциалом в отношении растений (синтез ауксина, растворение труднодоступных соединений фосфора, специфические и неспецифические противопатогенные эффекты). Филогенетический анализ наиболее перспективных изолятов, основанный на последовательности гена 16S рРНК, позволил отнести их к группе  $\gamma$ -Proteobacteria, и выявил их родство с родами *Pseudomonas* и *Enterobacter*.

Полученные данные позволяют рассматривать промышленные шламы как уникальную экологическую нишу для сохранения узкого круга адаптированных диазотрофных микроорганизмов, которые играют важную роль в процессе фиторемедиации путем снабжения биоценоза доступным азотом, участия в деградации загрязнений и поддержания роста растений в экстремальных условиях углеводородного отхода.

## ЭФФЕКТЫ АЛКИЛОКСИБЕНЗОЛОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ДНК К УЛЬТРАФИОЛЕТОВОМУ ОБЛУЧЕНИЮ В МОЛЕКУЛЯРНЫХ И КЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМАХ

*Давыдова О.К., Грязева И.В.*

Оренбургский государственный университет, Оренбург

E-mail: okdavydova@yahoo.com

Воздействие ультрафиолетового облучения (УФ) на микроорганизмы обуславливает развитие комплекса мутагенных и летальных эффектов, в значительной степени определяемых поглощением ДНК в диапазоне 240-300 нм с максимумом 254 нм. Проведенные ранее исследования показали, что одной из групп веществ, защищающих генетический аппарат бактериальной клетки от УФ-излучения, являются алкилоксибензолы (АОБ), составляющие активное начало ауторегуляторов широкого спектра действия. При этом продемонстрирована возможность прямого взаимодействия АОБ с ДНК, существенно изменяющего физико-химические свойства этой макромолекулы. Другим механизмом, направленным на устранение негативных последствий УФ-излучения, являются системы репарации ДНК, среди которых важное значение имеет SOS-регуляторная система.

Целью настоящего исследования явилась сравнительная оценка влияния ряда гомологов алкилоксибензолов (С7-, С9-, С11-, С12- и С18-АОБ) на устойчивость ДНК к УФ-излучению на моделях *in vitro*, а также на уровень активации репарационной системы и жизнеспособность клеток *Escherichia coli* при подобном воздействии.

Установлено, что в присутствии АОБ облучение ДНК при 254 нм приводит к ее менее выраженной деструкции, заключающейся в предотвращении образования межнитевых сшивок и двунитевых разрывов и регистрируемой по изменению картины электрофоретической подвижности ДНК в агарозном геле.

С использованием рекомбинантного люминесцирующего штамма *E. coli*, несущего генетическую конструкцию *recA'::lux*, продемонстрирована меньшая активация репарационных систем при УФ-облучении в клетках, предварительно инкубированных в контакте с АОБ. При этом на ранних этапах воздействия или при его небольшой интенсивности жизнеспособность интактных клеток, активирующих свои *recA*-зависимые репарационные системы, оказывалась выше. С другой стороны, увеличение длительности и интенсивности УФ-облучения вело к относительно большей выживаемости клеток, предварительно инкубированных с АОБ.

Полученные результаты позволяют сформулировать предположение о механизме биологической активности АОБ через прямое взаимодействие с ДНК снижающих активность транскрипционных процессов, но сообщающих данному биополимеру повышенную «пассивную» устойчивость к УФ-излучению.

## УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК *ERWINIA CAROTOVORA* SSP. *ATROSEPTICA* SCRI1043 В УСЛОВИЯХ ГОЛОДАНИЯ

Даминова А.Г., Горшков В.Ю., Агеева М.В., Петрова О.Е., Гоголева Н.Е.,  
Сорокина Ю.В., Гоголев Ю.В.

Институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань  
E-mail: aminochka\_88@mail.ru

Длительное сохранение жизнеспособности в неблагоприятных для роста условиях является адаптивным свойством микроорганизмов. При стрессе бактериальные клетки способны значительно перестраивать свой метаболизм и увеличивать резистентность. Нами были исследованы адаптивные реакции фитопатогенной бактерии *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* SCRI1043 (*Eca*) к стрессу, вызванному голоданием.

При инкубировании *Eca* на безуглеродной среде происходило снижение титра культивируемых клеток и значительное изменение ультраструктуры клеток. При длительном голодании клеток *Eca* происходил их обратимый переход в «жизнеспособное, но некультивируемое» состояние. В отличие от вегетативных клеток, которые имели палочковидную форму, хорошо выявляемую наружную и цитоплазматическую мембрану, электронно-плотную цитоплазму с диффузно расположенным нуклеоидом, некультивируемые клетки характеризовались сферической формой, утолщенной клеточной стенкой, обширным пространством низкой электронной плотности внутри клетки и крупно-гранулированной цитоплазмой с конденсированным нуклеоидом.

Образование некультивируемых клеток описано в литературе как адаптивный ответ микроорганизмов на действие неблагоприятных факторов. Активация физиологической программы стрессового ответа осуществляется на популяционном уровне при помощи межклеточной коммуникации и, следовательно, требует высокой плотности популяции. В свою очередь механизмы адаптации бактерий при низкой численности клеток не исследованы. В связи с этим мы оценили ультраструктурные изменения бактериальных клеток в процессе голодания при низкой плотности популяции. Даже в отсутствие субстрата происходило увеличение численности клеток, предположительно вследствие утилизации запасных веществ. Популяция бактерий при этом была представлена различными клеточными морфотипами. У части клеток наблюдали процесс плазмолиза. У всех морфотипов были обнаружены клетки в состоянии деления, что напрямую свидетельствовало об их жизнеспособности.

Таким образом, в условиях голодания происходят различные ультраструктурные изменения клеток *Eca*, в зависимости от исходной плотности популяции. Это, по-видимому, отражает различные механизмы формирования стрессового ответа микроорганизмов.

## ПРОДУКЦИЯ ОЛЕИНОВОЙ И ЛИНОЛЕВОЙ КИСЛОТ КУЛЬТУРОЙ ГРИБА ШИИТАКЕ

*Дербенева В.В.*<sup>1</sup>, *Цивилева О.М.*<sup>2</sup>, *Панкратов А.Н.*<sup>1</sup>, *Учаева И.М.*<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

<sup>2</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

<sup>3</sup>Саратовский государственный технический университет, Саратов

E-mail: PankratovAN@info.sgu.ru

На синтетической среде культивирования (с *D*-глюкозой и *L*-аспарагином) в присутствии добавок 2-(4-гидроксифенил)этан-1-ола (тирозоло) или *L*-триптофана выращены образцы мицелия базидиомицета *Lentinula edodes* (шиитаке).

Хромато-масс-спектрометрическим методом установлено, что наличие экзогенного *L*-триптофана в глубинной культуре шиитаке приводит к ответной реакции, включающей изменение содержания жирнокислотных компонентов гриба, относящихся к биохимическому фактору  $d_2$  – аутоstimулятору автолиза.

Наиболее значительным изменениям под действием триптофана подвержены характеристики биосинтеза олеиновой кислоты, что подтверждает роль этого соединения как биологически активного начала фактора  $d_2$ .

При введении в питательную среду шиитаке тирозола в интервале значений концентрации от  $5.00 \cdot 10^{-7}$  до  $5.00 \cdot 10^{-4}$  моль/л среди метаболитов отмечается линолевая кислота в относительно высоком количестве. Это в конечном итоге приводит к заключению о том, что тирозол проявляет себя как фактор  $d_1$  – аутоиндуктор анабиоза в отношении культуры шиитаке.

Наличие экзогенного тирозола в составе сред культивирования шиитаке в целом приводит к повышению лектиновой активности культуральной жидкости. Исключение составляет фаза активного роста мицелия (вблизи 14 сут.), на которой увеличения указанной биологической активности под действием тирозола не наблюдается. Таким образом, лектиновая активность, являющаяся индикатором отклика культуры на стрессовое воздействие, указывает на роль тирозола как имитатора стресса.

Выявлены общие тенденции в характере фрагментации триметилсилильных эфиров жирных кислот: низкая интенсивность пика молекулярного иона, отщепление метильного радикала  $\text{CH}_3^\bullet$  и молекулы оксида углерода (IV), формирование ионов  $\text{COOSi}(\text{CH}_3)_3^+$ ,  $\text{Si}(\text{CH}_3)_3^+$ ,  $\text{CO}_2^{\bullet+}$  и  $\text{C}_3\text{H}_7^+$ . Для отдельных соединений имеет место образование других алкильных осколочных ионов и отщепление алкильных радикалов, молекул алканов, алкенов, элиминирование небольших устойчивых молекул ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$  и  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ).

## **ПРОТЕОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ САЛИЦИЛАТ-ИНДУЦИРУЕМЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В РАСТЕНИЯХ ГОРОХА**

*Егорова А.М., Яковлева В.Г.*

Учреждение Российской академии наук Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань  
E-mail: alevtinaegorova@gmail.com

В течение своей жизни растения подвергаются воздействию неблагоприятных условий окружающей среды и нападению со стороны многочисленных патогенов и вредителей, включая вирусы, бактерии, грибы, оомицеты, нематоды и травоядные насекомые. Воздействие биотических и абиотических стрессоров «включает» различные сигнальные системы растений, что приводит к экспрессии защитных генов, синтезу защитных белков и, как следствие, к целому ряду адаптивных защитных ответов. Одним из индукторов иммунитета и устойчивости растений является салициловая кислота (СК). Изучение влияния СК на протеомы растений способно помочь в понимании молекулярных механизмов, лежащих в основе адаптации растений к неблагоприятным эколого-климатическим условиям существования и иммунитета к патогенам.

Мы изучили влияние СК на протеомы листьев и корней проростков гороха. Использование метода 2Д-электрофореза и масс-спектрометрии позволило выявить ряд белков, экспрессия которых изменялась под влиянием экзогенной СК в листьях и корнях гороха. Интересен факт, что спектр СК-индуцируемых белков в листьях и корнях различен. В листьях СК индуцировала повышение содержания белков, обладающих прямым анитатогенным действием. Это хитиназы, изоформы кислых и щелочных бета-1,3-глюканаз, гликозидгидролаза, белок устойчивости к болезням. Повышалось также содержание белков, повышающих устойчивость самих клеток растений (липиддесатуразоподобный белок, белок 33 кДа фотосистемы II и т.д.).

В корнях СК вызывала повышение содержания белков, не обладающих прямым антипатогенным действием, но повышающих устойчивость клеток. Они участвуют в детоксикации токсичных продуктов, образующихся в ходе накопления активных форм кислорода (глутатион-S-трансферазы, аскорбатпероксидаза, тиоредоксин пероксидаза), в энергетическом метаболизме (малатдегидрогеназа, енолаза), в клеточном сигналинге (NBS-LRR, 14-3-3 белок, липоксигеназа, 10,11-редуктаза 12-оксофитодиеновой кислоты), в процессах дупликации и репарции ДНК (ядерный антиген пролиферирующих клеток), трансляции (фактор элонгации трансляции), рефолдинге белков (шаперонин 60) и их протеолизе (полиубиквитин).

Таким образом, изменения протеомов листьев и корней гороха при действии СК отличаются, что может отражать разную стратегию защиты этих органов от патогенов. В листьях защитные ответы направлены на прямую защиту от патогенов, тогда как в корнях – на повышение устойчивости клеток и активацию различных сигнальных систем, которые в конечном итоге ведут к устойчивости.

## **АДАПТАЦИЯ ШТАММОВ ВИДА *PAECILOMYCES LILACINUS* (ТНОМ) SAMSON К РАДИОАКТИВНОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ**

*Егорова А.С.<sup>1</sup>, Иванова А.Е.<sup>2</sup>, Белозерская Т.А.<sup>1</sup>, Гесслер Н.Н.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

E-mail: [as.egorova@gmail.com](mailto:as.egorova@gmail.com)

Деятельность человека неизбежно приводит к изменению окружающей среды. Поэтому изучение механизмов адаптации организмов к антропогенным воздействиям становится все более актуальным.

Объектом нашего исследования был типичный почвенный микромицет *Raecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. Этот вид с повышенной частотой выделяется из местообитаний, подверженных антропогенным нагрузкам (урбанизации, загрязнению нефтепродуктами и тяжелыми металлами, а также радионуклидному загрязнению). Было изучено 3 штамма, выделенных из почвы зоны отчуждения Чернобыльской АЭС, и 5 штаммов из почв с фоновым уровнем радиоактивности.

Для выявления ростовых особенностей штаммов были измерены радиальные скорости роста (K<sub>r</sub>) в широком диапазоне концентраций глюкозы в среде (от 0.002 до 5%). Для штаммов, выделенных из почвы зоны отчуждения ЧАЭС характерно увеличение скорости роста при низких концентрациях глюкозы (0.02-0.2%).

Основное повреждающее действие радиации связано с образованием активных форм кислорода (АФК) при радиолизе воды. Поэтому для моделирования окислительного стресса проводили инкубацию с 10 мМ Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> в течение 1 часа. Было определено изменение активности основных антиоксидантных (АО) ферментов (супероксиддисмутаза и каталазы). Маркером окислительного стресса служило содержание карбонильных групп в белках, выделенных из мицелия. Наибольшую чувствительность к стрессу проявил штамм из ненарушенной дерново-подзолистой почвы, а наименьшую – штаммы из почвы зоны отчуждения ЧАЭС. Реакции АО-ферментов были штаммоспецифичны, что позволило сделать вывод о наличии у отдельных штаммов *P. lilacinus* альтернативных путей защиты от стресса.

Известно, что большую устойчивость к неблагоприятным воздействиям проявляют меланин-содержащие грибы. До настоящего времени не было сведений о присутствии у *P. lilacinus* пигментов меланиновой природы. Однако методом ЭПР-спектроскопии нами были получены данные о содержании в грибной биомассе меланиновых пигментов.

*Исследования поддержаны грантом РФФИ 08-04-01833.*

## **НАПРАВЛЕННОЕ ИЗМЕНЕНИЕ КАТАЛИТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ФЕРМЕНТА ДИВИНИЛЭФИРСИНТАЗЫ ТАБАКА (*NICOTIANA TABACUM*) МЕТОДОМ САЙТ-СПЕЦИФИЧНОГО МУТАГЕНЕЗА**

*Ермилова В.С., Осипова Е.В., Четкин И.Р., Мухитова Ф.К.,  
Гоголев Ю.В., Гречкин А.Н.*

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань  
E-mail: [ntdes@mail.ru](mailto:ntdes@mail.ru)

В ответ на биотический и абиотический стресс в клетках растений образуются окисленные производные жирных кислот – оксипирины. Они выполняют различные функции, в том числе выступают в качестве сигнальных молекул и обладают антимикробной активностью. Биосинтез оксипиринов в растениях происходит с участием липоксигеназ, которые катализируют реакции образования 9- и 13-гидроперекисей из линолевой и линоленовой кислот. Их дальнейшее преобразование осуществляется ферментами CYP74 цитохромов P450, к которым относятся дивинилэфирсинтазы (ДЭС). Продукты реакций, катализируемых ДЭС, обладают защитными свойствами. Так, колнелевая и колнеленовая кислота в растениях табака ингибируют рост мицелия и развитие спор патогенных грибов. На сегодняшний день клонировано лишь несколько генов ДЭС и только некоторые из них биохимически охарактеризованы. Для определения каталитически важных аминокислотных остатков ДЭС табака мы модифицировали ее первичную структуру и анализировали изменения каталитических свойств фермента.

В результате сравнения аминокислотных последовательностей 40 ферментов семейства CYP74 были выявлены консервативные и варьируемые аминокислотные остатки в некоторых позициях. Среди определяющих активность фермента аминокислотных остатков у ДЭС табака в положении 289 присутствует высококонсервативный аспарагин. В то же время для гидропероксидаз в этом сайте характерно присутствие серина. Используя сайт-специфичный мутагенез и гетерологичную систему экспрессии рекомбинантного гена ДЭС табака, мы получили мутантную форму фермента с заменой, соответствующей гидропероксидазам. Масс-спектрометрический анализ продуктов реакции ДЭС N289S с (9S)-гидроперекисью линолевой кислоты показал присутствие 9-оксононановой кислоты. Такой продукт реакции характерен для гидропероксидазной активности фермента. Таким образом, благодаря замене отдельного аминокислотного остатка произошло изменение активности фермента с дегидразной (дивинилэфирсинтазной) на изомеразную (гидропероксидазную). Полученные данные позволяют предположить, что функциональное разделение ферментов семейства CYP74 в эволюции возможно в результате минорных изменений их первичной структуры.

## АЛКИЛРЕЗОРЦИНЫ ЯВЛЯЮТСЯ РЕГУЛЯТОРАМИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM*

*Ильчукова А.В.<sup>1</sup>, Тугарова А.В.<sup>1</sup>, Эль-Регистан Г.И.<sup>2</sup>, Антонюк Л.П.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

<sup>2</sup>Учреждение Российской академии наук

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва

E-mail: Nastya3990@yandex.ru

Азоспириллы колонизируют корневую систему многих пищевых и кормовых культур и улучшают за счет азотфиксации и синтезируемых фитогормонов питание растения-хозяина. Природная среда обитания азоспирилл – ризосфера, где они подвергаются действию различных веществ, в том числе и алкилрезорцинов. Алкилрезорцины и некоторые другие алкилоксибензолы известны как биоэффекторы с широким спектром адаптогенных и регуляторных функций. Однако влияние их на ризобактерии до конца не изучено. В данной работе было исследовано влияние гексилрезорцина и метилрезорцина на культуры *Azospirillum brasilense* и *A. lipoferum*.

Эксперименты показали, что действие изучаемых алкилрезорцинов было строго дозозависимо. Так, присутствие  $4 \cdot 10^{-5}$ - $8 \cdot 10^{-5}$  М гексилрезорцина в среде приводило к снижению оптической плотности культур *A. brasilense* Sp245, причем, чем выше была концентрация биорегулятора, тем бóльшим было снижение оптической плотности ( $D_{590}$ ). При этом вид *A. lipoferum* оказался более чувствительным к действию гексилрезорцина, чем *A. brasilense*.

С использованием фазово-контрастного микроскопа Leica DM2500 было показано, что под действием гексилрезорцина клетки *A. brasilense* Sp245 округляются и становятся мельче. Это, в свою очередь, может быть одной из причин наблюдаемого нами «дисбаланса» параметров роста стрессированных *A. brasilense* Sp245: в культурах наблюдалось снижение  $D_{590}$  под действием гексилрезорцина, однако клетки при этом полностью сохраняли свою жизнеспособность.

Кроме того, гексилрезорцин влиял на субпопуляционный состав *A. brasilense*, ~3-кратно увеличивая долю клеток, устойчивых к высоким температурам (60°C). Данное увеличение устойчивости клеток может быть вызвано стабилизирующим действием данного вещества на различные компоненты бактериальной клетки.

Ингибирующий концентрационный диапазон метилрезорцина был выше и находился в пределах от  $4 \cdot 10^{-3}$  до  $8 \cdot 10^{-3}$  М. Более низкие концентрации этого эффектора,  $10^{-7}$ - $10^{-4}$  М, не оказывали влияния на рост *A. brasilense* Sp245 и SR75 и не изменяли морфологию клеток.

Таким образом, гексилрезорцин ( $4 \cdot 10^{-5}$ - $8 \cdot 10^{-5}$  М) и метилрезорцин ( $4 \cdot 10^{-3}$ - $8 \cdot 10^{-3}$  М) ингибировали рост, изменяли морфологию и приводили к повышению термоустойчивости *A. brasilense* и *A. lipoferum*.

## **ВЛИЯНИЕ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ В РАСТЕНИЯХ**

*Картунова Ю.Е., Михайлова К.А., Асафова Е.В.*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

E-mail: Oktavia666@rambler.ru

Антиоксидантные системы играют ключевую роль в преодолении негативных последствий окислительного стресса при неблагоприятных внешних воздействиях. Одним из важных антиоксидантов, запускающих неспецифические ответные реакции в растениях при стрессах, является оксид азота (NO). Исследование протекторных свойств экзогенного NO, к которым относятся микроорганизмы, биологические продуценты оксида азота, остается актуальным. В связи с этим цель настоящей работы состояла в выяснении влияния *Lactobacillus plantarum*, в том числе с повышенным образованием NO на изменение антиоксидантной активности в растениях пшеницы при обезвоживании. Объектами исследования были листья 7-суточных проростков яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Дебют, часть которых подвергали стрессу обезвоживания (28°C, 2.5 ч). Предварительно интактные проростки выдерживали в суспензии бактерий *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 ( $10^9$  кл./мл), выращенных на средах с 0.1 мМ L-аргинина и без него.

В наших экспериментах показано, что при обезвоживании в листьях происходило снижение (на 20%) суммарной антиоксидантной активности, определяемой методом кулонометрического титрования электрогенерированным бромом. После предобработки проростков суспензией лактобацилл, в том числе и с повышенным содержанием NO, отмечено сохранение антиоксидантной емкости (АОЕ) растительных экстрактов при стрессе на начальном уровне, что могло определяться изменением вклада отдельных антиокислительных компонентов в общую антиоксидантную активность. Так, обнаружена активация одного из ферментов антиоксидантной защиты – каталазы: на 20% при действии *Lactobacillus plantarum* и на 37% под влиянием суспензии с более высоким уровнем NO. Повышение удельной активности каталазы в листьях опытных вариантов вызвало снижение аккумуляции пероксида водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), определяемого с помощью красителя ксиленола-оранжа. В листьях контрольного варианта при обезвоживании содержание H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> возросло на 53%, а количество малонового диальдегида (МДА), регистрируемого по реакции с тиобарбитуровой кислотой, – на 33%. Окислительный стресс в опытных вариантах не развивался, о чем свидетельствует сохранение количества МДА в листьях после предобработки бактериальной суспензией с разным количеством оксида азота. На основании полученных результатов сделано предположение, что экзогенный источник NO, суспензия *Lactobacillus plantarum* 8P-A3, принимает участие в активации антиоксидантных систем растений при обезвоживании.

## **ВЛИЯНИЕ ПОЧВЕННОГО САПРОФИТНОГО ГРИБА *CHAETOMIUM COCHLIODES* PALLISER НА СТОЙКОСТЬ РАСТЕНИЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ КОРНЕВЫХ ГНИЛЕЙ**

Копылов Е.П.

Институт сельскохозяйственной микробиологии НАН Украины, Чернигов  
E-mail: [evhenykopilov@rambler.ru](mailto:evhenykopilov@rambler.ru)

В Институте сельскохозяйственной микробиологии Национальной академии аграрных наук Украины выделен штамм почвенного сапрофитного гриба *Chaetomium cochliodes* 3250, который характеризуется высокой антагонистической активностью по отношению к фитопатогенным грибам. Интродуцированный в почву с семенами яровой пшеницы, он способен приживаться в корневой зоне растений, проявляя антифунгальную активность против возбудителей обычной (гельминтоспориозной) и фузариозной корневых гнилей. Нами установлено, что распространение корневых гнилей уменьшилось в среднем за шесть лет исследований в 2.8 раза, а интенсивность проявления болезни – в 3.8 раз (биологическая эффективность – 82-82.7%). Биологическая эффективность при использовании химического протравителя Витавакса 200ФФ была значительно меньшей и составляла 22-48%.

Ограничение развития фитопатогенных грибов и повышение интенсивности физиолого-биохимических процессов в растительном организме наблюдалось не только при использовании живой культуры, но и культуральной среды гриба. При этом биологическая эффективность составляла 57-63%. Известно, что биоконтроль фитопатогенов интродуцированными микроорганизмами является результатом комплексного действия различных механизмов. В последние годы внимание исследователей привлекают биогенные элиситоры, образуемые почвенными грибами и являющиеся для растений чужеродными, воспринимаемыми, как вторжение инфекции. Действие элиситоров приводит к формированию иммунного ответа растений по отношению к патогенам.

Анализ жирнокислотного состава культуральной среды *C. cochliodes* 3250 позволил установить наличие арахидоновой (эйкозатетраеновой) кислоты (1.4% от общего содержания жирных кислот), которую относят к биогенным элиситорам. В растительных тканях арахидоновая кислота приводит к экспрессии защитных генов, синтезу стрессовых белков и фитоалексинов, индуцируя системный иммунный ответ на действие патогенов и неблагоприятных условий. Таким образом, к одному из факторов, ограничивающему развитие корневых гнилей яровой пшеницы при использовании *C. cochliodes* 3250, можно наряду с антагонистическими свойствами также отнести образуемую грибом арахидоновую кислоту, что дает возможность защитить растения, используя культуральную среду гриба.

## РЕАКЦИЯ МИКРОМИЦЕТОВ ЧЕРНОЗЕМА ВЫЩЕЛОЧЕННОГО НА ЗАГРЯЗНЕНИЕ 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛОМ

*Кормильцева И.П., Яковлева Г.Ю., Захарова Н.Г., Куриненко Б.М.*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

E-mail: idemidova2006@yandex.ru

Результатом более чем векового использования взрывчатого вещества 2,4,6-тринитротолуола (ТНТ) стало загрязнение почв на огромных территориях. Как показали исследования, ксенобиотик до сих пор обнаруживается в почвах, загрязненных во время Второй мировой войны. ТНТ, загрязняющий почву, оказывает отрицательное воздействие на цикл углерода. Загрязненная почва испытывает антропогенный стресс, который не может не оказать влияния на состав и разнообразие сообщества почвенных микроорганизмов, важное место в котором занимают микроскопические грибы.

Цель работы – оценить реакцию сообщества микромицетов при загрязнении чернозема выщелоченного 2,4,6-тринитротолуолом.

Как показало исследование, в незагрязненной почве видовой состав грибов был представлен 41 видом, относящимся к различным родам, только здесь встречались изоляты *Stemphilium*, *Ostracoderma*, *Microascus*, *Funseceae*, *Phialophora*, *Trichotecium*, *Ulocladium*, *Sclerotinia*, *Pullularia*.

В почве, загрязненной наименьшей дозой ксенобиотика (20 мг/кг), обнаружено уменьшение количества видов за счет исчезновения случайных. Выявлено снижение обилия микромицетов родов *Hormiscium*, *Mortierella*, *Monocillium*. Тенденция исчезновения микроорганизмов с низкой частотой встречаемости (ЧВ) получила развитие в почве, содержащей 50 мг ТНТ/кг. Не были обнаружены микромицеты, относящиеся к родам *Halobysus*, *Absidia*, *Nigrospora*, *Scolecobasidium*. Однако увеличилась ЧВ *Cephalosporium*, *Aspergillus* и *Sporotrichum*, *Fusarium*. При внесении ТНТ в концентрации 100 мг/кг почвы не встретились *Scedosporium*, *Mucor*, *Monocillium*, *Doratomyces*.

Качественный состав сообщества микроскопических грибов становится существенно беднее в почве, обработанной 200 мг ТНТ. В то же время с увеличением концентрации ТНТ возрастает ЧВ родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Geomyces*, *Sporotrichum* и др., имеющих обильное спороношение. Видимо, данные роды способны активно колонизировать освободившуюся экологическую нишу.

Коэффициент сходства Серенсена, рассчитанный для контрольной почвы и почвы, содержащей 20 мг ТНТ/кг, свидетельствует о близости их микромицетных комплексов. Низкие коэффициенты сходства (менее 40%), полученные для незагрязненной почвы и вариантов, содержащих поллютант в концентрации 50-200 мг/кг почвы, указывают на их значительные отличия.

Из вышесказанного становится очевидным, что определение таких характеристик, как структура сообщества и индексы сходства, может служить ценным инструментом при определении уровня загрязненности почв.

## ФОТОРЕГУЛЯЦИЯ РИТМОВ УСТЫЧНЫХ ДВИЖЕНИЙ НА ЕСТЕСТВЕННОМ ФОТОПЕРИОДЕ

*Кочетова Г.В., Константинова С.В., Баитанова У.Б.*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

E-mail: galina.kochetova@gmail.com

Известно, что в естественных условиях фоторецепторы (фитохромы и криптохромы) участвуют в подстраивании фазы и периода циркадных ритмов растений к астрономическим суткам [1]. Ранее нами было показано, что полное отсутствие фитохромов в растении существенно нарушает ритм устьичных движений на естественном фотопериоде [2].

Для разделения ролей фитохромов в регуляции циркадных ритмов устьичных движений были исследованы ритмы изменений устьичных апертур на естественном фотопериоде (свет с 6:00 до 22:00) у гороха дикого типа «Torsdag» и мутантов по фитохрому А (*phyA-1*) и по фитохрому В (*phyB-5*).

У дикого типа наблюдался характерный для устьичных движений  $S_3$  растений ритм: вслед за утренним открыванием (максимум около 10:00) происходило частичное закрывание устьиц в середине дня (около 14:00), затем вечерний пик открывания (17:00) и закрывание при приближении ночи.

Ритм устьичных движений у мутанта по фитохрому А существенно отличался: устьица были сильно открыты с самого утра, постепенно закрывались в течение дня с резким закрыванием вечером. Сильное и быстрое закрывание в ответ на закатное освещение у данного мутанта полностью согласуется с данными литературы о роли фитохрома В в восприятии уменьшения соотношения К:ДК в закатном свете [3]. Существенное отличие ритма у данного мутанта от ритма дикого типа свидетельствует о важной роли фитохрома А в регуляции суточного ритма устьичных движений.

У мутанта по фитохрому В сохранялся ритм, похожий на ритм у дикого типа, но наблюдалось более позднее, чем у дикого типа, утреннее открывание устьиц, а также отсутствовало вечернее закрывание. То есть вклад фитохрома В в формирование ритма устьичных движений в течение светового дня менее существенный, чем вклад фитохрома А, хотя, по-видимому, он определяет более раннее открывание устьиц, а также закрывание их в конце дня.

Таким образом, фитохромы являются основными регуляторами циркадных ритмов устьичных движений (по крайней мере, у гороха), тогда как рецепторы синего света, вероятно, занимают подчиненное положение и не могут компенсировать отсутствие фитохрома. Фитохром А необходим и почти достаточен для обеспечения ритмических движений устьиц в течение светлого времени суток. Фитохром В также необходим, но роль его более второстепенна.

*Работа поддержана грантом РФФИ 08-04-01453.*

1. McClung C.R. // Annu. Rev. Plant Mol. Biol. – 2001. – Vol. 52. – P. 139-162.
2. Сокольская С.В. и др. // Вестник Башк. Ун-та – 2001. – 2. – С. 77-79.
3. Lopez-Juez E. *et al.* // The Plant Cell. – 1992. – 4. – P. 241-251.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПУТИ ДЕГРАДАЦИИ ГЛИФОСАТА У БАКТЕРИЙ *ACINETOBACTER SP. K7*

*Крючкова Е.В., Чернышова М.П., Гринев В.С., Макаров О.Е., Федоров Е.Е.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: kryu-lena@yandex.ru

Глифосат – широко применяемый фосфорорганический гербицид, разлагающийся в почве в основном за счет микробной жизнедеятельности. На сегодняшний день открыто два пути бактериальной деградации гербицида: первый через аминотетрагидроптеридин (АМФК) и гликозилат, второй – через саркозин и ортофосфат, которые образуются при разрыве С-Р связи в молекуле глифосата. Второй путь более важен для окружающей среды, поскольку такая деструкция гербицида обуславливает его полную минерализацию. Трудность заключается в том, что ферментный комплекс, отвечающий за разрыв С-Р связи, не выделен и не охарактеризован. Это сложно сделать, так как его элементы локализованы в различных частях бактериальной клетки.

Цель данного исследования заключалась в определении пути деградации глифосата у ризосферных бактерий *Acinetobacter sp. K7*, способных к росту на гербициде в качестве единственного источника фосфора.

Количественное определение глифосата и его метаболитов в среде культивирования и экстрактах биомассы проводили с помощью газовой и тонкослойной хроматографии. Глифосат вносили в среду культивирования как источник фосфора в двух формах: изопропиламиновой соли глифосата в составе коммерческого препарата «Раундап» (0.4 мг/мл) и чистого соединения, представляющего собой кислоту (0.2 мг/мл).

Газохроматографический анализ показал, что за период экспоненциальной фазы роста бактериальной культуры происходит полная убыль обеих форм глифосата из среды культивирования. В экстрактах биомассы, собранных на 4-е сутки роста, зарегистрировано менее 1% от внесенного глифосата. Ни в одном из исследуемых образцов среды и биомассы не была обнаружена АМФК, а наличие неорганического фосфата в среде культивирования приводило к ингибированию поглощения и дальнейшего метаболизма глифосата бактериальными клетками.

Другие возможные метаболиты, образующиеся в процессе деградации глифосата, были проанализированы в образцах суточной культуральной жидкости методом тонкослойной хроматографии. Сравнение  $R_f$  полученных метаболитов с величинами, полученными для стандартных веществ, позволило идентифицировать в культуральной среде наличие глицина ( $R_f = 0.67$ ) и саркозина ( $R_f = 0.51$ ). Чтобы исключить образование саркозина и глицина в ходе биохимических реакций в качестве контроля использовали культуральную жидкость без добавления глифосата.

Полученные результаты позволяют предполагать, что деструкция глифосата у бактерий штамма *Acinetobacter sp. K7* происходит по С-Р лиазному пути.

## КОЛОНИЗАЦИЯ РАСТЕНИЙ АССОЦИАТИВНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ *IN VITRO* ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К БИОТИЧЕСКИМ И АБИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Лебедева А.А.<sup>1</sup>, Захарченко А.В.<sup>1</sup>, Чепурнова М.А.<sup>2</sup>, Захарченко Н.С.<sup>1</sup>,  
Бурьянов Я.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Филиал Учреждения Российской академии наук Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино

<sup>2</sup>Тульский государственный университет, Тула

E-mail: zachar@fibkh.serpukhov.su

Известно, что ассоциативные микроорганизмы способны стимулировать рост и урожай растений за счет способности к азотфиксации, вытеснению или подавлению роста патогенов (синтез феназинов, сидерофоров, агроцинов, псевдобактеринов), образованию физиологически активных веществ (фитогормоны, ростовые факторы), способствуют мобилизации питательных элементов из почвы (фосфора, железа, азота), к деградации и детоксикации чужеродных химических соединений в окружающей среде. В свою очередь, растения обладают биосинтетическими свойствами, способствующими росту ассоциативных микроорганизмов. Несмотря на многочисленные публикации, физиологические и другие механизмы образования и функционирования ассоциативной связи микроорганизмов с растениями изучены недостаточно.

Целью нашей работы было изучение влияния колонизации растений томатов (*Lycopersicon esculentum* L.) и каланхоэ перистого (*Kalanchoe pinnata* L.) ассоциативными микроорганизмами на морфогенез и устойчивость растений к биотическим и абиотическим стрессовым факторам. Для колонизации растений использовали бактериальные штаммы: псевдомонады – *Pseudomonas aureofaciens*, *Pseudomonas aureofaciens* (RFP), *Pseudomonas* КТ 2442::GFP, метиლობактерии – *Methylovorus mays* ВКМ В-2221.

Микроскопический и микробиологический анализы колонизированных тканей каланхоэ и томатов штаммами псевдомонад, содержащих гены флуоресцентных белков GFP и RFP, подтвердили наличие прочной ассоциативности с микроорганизмами. Колонизированные растения обладали улучшенными адаптационными характеристиками к условиям *in vivo*, а также повышенной устойчивостью к фитопатогенным микроорганизмам *Erwinia carotovora*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pseudomonas syringae*, *Phytophthora infestans*. Таким образом, взаимодействие с ассоциативными бактериями изменяет метаболизм растения-хозяина, делая его более устойчивым к неблагоприятным факторам внешней среды.

Работа поддержана грантами РФФИ № 08-08-00406, 10-04-00037.

## **ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОСТИ СРЕДЫ НА ФУНГИЦИДНУЮ АКТИВНОСТЬ БЕНЗАЛКОНИУМ ХЛОРИДА**

*Луговнёва А.П., Воронкович Н.В., Гончарова И.А.*

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

E-mail: sorbic@mbio.bas-net.by

Свойства биозащитных материалов во многом зависят от условий эксплуатации (температура, влажность, наличие загрязнений, компоненты воздушной среды и др.). На эффективность биоцидной обработки в значительной степени влияют также свойства обрабатываемых материалов, в первую очередь кислотность.

Препараты на основе четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) получили широкое распространение в качестве антисептиков и дезинфектантов во многих странах. Они обладают выраженными антимикробными свойствами, оказывают антикоррозионное и антистатическое действия, малотоксичны для человека, хорошо растворимы в воде, стабильны при хранении. Наиболее часто в биоцидные композиции вводят бензалкониум хлорид (алкилдиметилбензиламмоний хлорид). Фунгицидную активность бензалкониум хлорида в различных условиях оценивали по его действию на рост микромицета *Aspergillus niger*, выделенного из очага плесневого поражения.

Биоцидные свойства бензалкониум хлорида в максимальной степени проявлялись в нейтральной среде, понижение pH агаризованной среды Чапека-Докса с 7.0 до 3.5 соответствовало уменьшению концентрации биоцида в 4.5 раза. При культивировании гриба на богатом ростовыми факторами сусл-агаре влияние кислотности среды на фунгитоксичность биоцида было менее выражено, чем на синтетической среде.

Добавление 0.1% бензалкониум хлорида в водорастворимый клей с pH 7.0 полностью ингибировало прорастание спор *A. niger*, а при понижении pH клея с тем же количеством биоцида до 5.0 массовое прорастание спор гриба наблюдалось уже через 1 сутки.

Хорошо известна способность плесневых грибов выделять в окружающую среду значительное количество органических кислот. Среда Чапека-Докса обладает буферными свойствами и содержит физиологически основной источник азота нитрат натрия, но, несмотря на это, за 5 суток культивирования в ней *A. niger* pH среды снизился с 6.0 до 3.8-3.5. Добавление в среду 0.001% бензалкониум хлорида усилило подкисление среды, конечный pH *A. niger* составил 2.2-1.6. Возможно, адаптация плесневых грибов к биоцидным препаратам на основе бензалкониум хлорида (Capatox, Adolit M flüssing, Acticide ВАС 50, Арквад МСВ 50) обусловлена, в первую очередь, их способностью подкислять окружающую среду, нейтрализуя токсическое действие препарата.

## **ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ АССОЦИАЦИЙ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ *PHASEOLUS VULGARIS* L.**

*Маркова О.В., Гарипова С.Р.*

ГОУ ВПО «Башкирский государственный университет», Уфа

E-mail: o-ksana@list.ru

Подбор микробно-растительных ассоциаций, в зависимости от различных экологических факторов, представляется очень перспективным для создания бактериальных препаратов – важного компонента адаптивных агроэкосистем.

Цель исследования – оценка бактериализации семян растений фасоли разных сортов в различных почвенно-экологических условиях РБ.

Полевые опыты проводили в 2007-2009 гг. на серой лесной почве и черноземе выщелоченном. В годы проведения экспериментов наблюдались существенные различия по влажности почвы: в 2007 г. – оптимальные условия по влагообеспеченности, в 2008 г. – дефицит влаги в первой половине вегетации, в 2009 г. – сильная засуха в течение всего вегетационного периода. Обработки семян разных сортов фасоли бактериальными ассоциациями Ф4, Ф5, Ф6 сравнивали с инокуляцией эталонным штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* 2630 и с контролем без инокуляции.

Результаты показали, что продуктивность семян существенно зависела, с одной стороны, от условий влагообеспеченности растений, с другой стороны, – от сорта фасоли. Для районированных сортов Уфимская и Золотистая влияние бактериальных обработок было в целом положительным, но для французского сорта Эльза – оказалось неэффективным во всех вариантах опыта, включая эталонный штамм ризобиум. Обработка эталонным штаммом способствовала увеличению массы семян фасоли сорта Золотистая на 39% в условиях чернозема, но при инокуляции фасоли сорта Уфимская на серой лесной почве отмечено снижение семенной продуктивности. В условиях 2007 года на серой лесной почве ассоциации Ф4 и Ф6 способствовали повышению продуктивности сорта Золотистая на 19 и 26%, соответственно. В 2008 г. ассоциация Ф4 стимулировала урожай на 28% (чернозем), в 2009 г. – Ф6 обеспечила прибавку массы зерна на 68% (серая лесная почва). Ассоциация Ф5 показывала стабильное положительное влияние на урожай обоих сортов фасоли при инокуляции семян на серой лесной почве, для сорта Уфимская прибавка составила 29%. Однако инокуляция сорта Золотистая в 2008 г. на черноземе привела к снижению семенной продуктивности в два раза по сравнению с контролем. Причиной этого могла послужить высокая, но неэффективная в данных условиях клубенькообразующая активность растений.

Таким образом, различия в эффективности бактериальных ассоциаций существенно зависели как от особенностей взаимоотношений микробного и растительного партнеров в различных экологических условиях, так и от степени проявления стрессового фактора – дефицита влаги.

## АДАПТАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ К НЕФТЯНОМУ ЗАГРЯЗНЕНИЮ

*Матенькова Е.А., Наплекова Н.Н.*

ФГОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет»,  
Новосибирск

E-mail: [lenamatenkova@mail.ru](mailto:lenamatenkova@mail.ru)

Нефтяные загрязнения воздействуют не только на компоненты биосферы Земли, но и ведут к общему падению продуктивности почвы. Загрязнение нефтью оказывает комплексное воздействие на окружающую природную среду и вызывает ее быструю отрицательную реакцию.

При этом естественное самоочищение природных экосистем происходит медленно, особенно при массивных загрязнениях и в регионах с пониженной температурой.

Исследования проводились в 2009 г. с почвенными образцами дерново-подзолистой почвы, взятыми в Тюменской области Нефтеюганского района. Объект исследования – почва, взятая на разном расстоянии от разлива нефти: 0-3 м; 15-25 м; 50-55 м (контроль), на глубину 0-20 см.

Целью нашей работы являлось изучение микробиологических свойств почвы при нефтяном загрязнении.

Действие нефтяного загрязнения на дерново-подзолистую почву оценивали по численности и составу микробоценоза. Из полученных данных можно сделать вывод, чем дальше удаленность от загрязнения, тем численность микроорганизмов выше. При загрязнении нефтью значительно увеличилась численность микроорганизмов, усваивающих минеральные формы азота (КАА).

Следует отметить высокую численность грибов в загрязненной нефтью почве (Чапека). Обнаружены преимущественно *Penicillium purpurescens*, *P. fuscum*, *P. glauco-griseum* и *Acrostalagmus albus*.

Не прореагировали на загрязнение аэробные азотфиксаторы (Эшби). Возможно, что азотфиксаторы способны к использованию низкомолекулярных фракций нефти. С усилением загрязнения усилилась их пигментация. Заметно реагируют на нефтяное загрязнение целлюлозоразрушающие микроорганизмы (Гетчинсона). Их содержание вдали от загрязнения увеличилось в 6 раз.

## ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЧВ НАЦИОНАЛЬНОГО ПАРКА «НИЖНЯЯ КАМА»

*Митько В.Е., Хилинская Я.В., Маргулис А.Б.*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

E-mail: Anna.Margulis@ksu.ru

Среди комплекса экологических проблем особое место занимает прогноз возможных генетических последствий загрязнения окружающей среды. Важное значение этой проблемы предопределено тем, что многие вещества, введенные в окружающую среду, обладают мутагенным и канцерогенным действием. Генотоксические вещества, поступающие в окружающую среду, представляют для человека реальную онкогенную опасность, которая многократно возрастает в силу того обстоятельства, что действию мутагенных химических соединений подвергаются не отдельные индивидуумы, а целые популяции.

Цель настоящей работы заключалась в определении токсических и мутагенных эффектов различных образцов почв национального парка «Нижняя Кама». В результате поставленных экспериментов были получены следующие результаты:

Показано, что водные и органические экстракты почвенных образцов не проявили токсических эффектов по отношению к тестерному штамму *Salmonella typhimurium*, за исключением образцов с промышленной площадки, где выживаемость тестерного штамма составила около 50%. Кроме того, водные экстракты исследуемых образцов не проявили мутагенных эффектов в тесте Эймса. Однако у ряда органических экстрактов были обнаружены мутагенные эффекты. К таким относились образцы почв с промышленных площадок и промежуточных участков между промышленными и лесными зонами.

При проведении сравнительного анализа химического состава и мутагенности было показано, что образец, содержащий значительное количество нефтепродуктов, обладал и мутагенным эффектом (превышение над контролем составило 5-6 раз). В то же время образцы, содержащие углеводородные загрязнения в количестве на несколько порядков ниже, также оказывали мутагенное воздействие на *Salmonella typhimurium*. Вероятно, мутагенность в данном случае не связана непосредственно с количеством содержащихся в образцах нефтепродуктов.

*Работа выполнена в рамках программы «Развитие научного потенциала высшей школы» (РНП 2.1.1.1005).*

## **ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ ПРЕПАРАТА РИБОСОМНОЙ РНК ИЗ ПРОРОСТКОВ ЯРОВОГО И ЗИМУЮЩЕГО ГОРОХА ПРИ ХРАНЕНИИ В ЖИДКОМ АЗОТЕ**

*Насонов А.И., Плотников В.К.*

ГНУ Краснодарский НИИСХ Россельхозакадемии, Краснодар

E-mail: molbiokniish@mail.ru

С 1990 года селекционеры Краснодарского НИИСХ активно занимаются селекцией зимующего гороха, который в отличие от яровых сортов лучше использует биоклиматический потенциал в регионах выращивания, осенне-зимние запасы влаги, меньше подвергаются воздействию суховея и обеспечивают гарантированное производство зерна. Представляет несомненный интерес изучение природы морозостойкости этой культуры. Основой современной жизни является наследуемый магний-зависимый биосинтез белка, который определяет все признаки ныне существующих организмов. В качестве центрального звена процесса биосинтеза белка выступает совокупность взаимодействующих друг с другом молекул РНК различных типов, прежде всего рибосомной РНК, формирующих аппарат белкового синтеза. Рибосома обладает магний-зависимыми рибозимными свойствами. В связи с этим в настоящей работе мы рассматриваем данные по соотношению 25S и 18S компонентов в электрофоретическом спектре РНК из этиолированных пятисуточных проростков зимующего и ярового гороха. РНК выделяли фенольно-детергентным методом в присутствии катионов лития или магния в экстрагирующем буфере, аликвоты хранили в жидком азоте (-196°C) и подвергали исследованию электрофорезом в 1.5%-ом агарозном геле через определенные промежутки времени в течение 2 месяцев с последующим компьютерным денситометрированием в программе GelPro 31. Вплоть до 6 суток наблюдалось увеличение соотношения 25S/18S компонентов рРНК от минимального 1.01 до максимального 2.05. После 6 суток происходило резкое снижение соотношения до минимального 0.85. При этом увеличение соотношения у магнийсодержащего препарата рРНК происходило более резко (1.12-2.05), чем у литийсодержащего (1.04-1.65). Напротив, снижение соотношения при дальнейшем хранении интенсивнее происходило у литийсодержащего препарата (1.65-0.85 в сравнении 2.05-1.33 у магниевого препарата). Все эти изменения были более выражены для РНК зимующего сорта Спутник, а для ярового сорта Лавр кривые соотношения были более пологими. Таким образом, полученные результаты позволяют полагать, что в первые сутки хранения преобладает распад магний-обогащенной 18S рРНК, а затем преобладает распад 25S рРНК. Вероятно, это связано с разным содержанием катионов магния в рРНК зимующего и ярового сортов. Сравнение магниевого и литиевого препаратов показало, что снижение соотношения 25S/18S рРНК сортоспецифично, что может послужить основой для разработки лабораторного метода оценки морозостойкости сортов гороха с целью ускорения селекционного процесса.

## **КОРРЕЛЯЦИЯ ЗНАЧЕНИЯ «ЗОЛОТОГО ЧИСЛА» ДОЛГОЖИВУЩЕЙ РНК ИЗ ЗРЕЛОГО ЗЕРНА ЗЛАКОВЫХ И БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ С МОРОЗОСТОЙКОСТЬЮ СОРТА**

*Пылаев Т.Е.<sup>1</sup>, Евтушенко Я.Ю.<sup>2</sup>, Насонов А.И.<sup>2</sup>, Плотников В.К.<sup>2</sup>,  
Богатырев В.А.<sup>1,3</sup>, Хлебцов Н.Г.<sup>1,3</sup>*

<sup>1</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

<sup>2</sup>ГНУ Краснодарский НИИСХ Россельхозакадемии, Краснодар

<sup>3</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов  
E-mail: pylaevte@rambler.ru

Ускорение селекции на повышение морозостойкости культурных растений остается актуальной проблемой. Низкотемпературная адаптация растительного организма является сложным биохимическим процессом, связанным, кроме прочего, со стабильностью долгоживущей РНК, запасенной в процессе созревания и функционирующей при набухании семян. Рибосомальная РНК составляет основную массу РНК клетки и представлена двумя типами нуклеиновых кислот – 25S и 18S рРНК, различающихся индексом стабильности, пространственной структурой и содержанием катионов магния.

Данная работа посвящена исследованию процессов магний-зависимого распада долгоживущей РНК зрелого зерна злаковых и бобовых сортов растений (пшеница, ячмень, горох). Нами была выявлена корреляция значения «золотого числа» РНК (минимального количества полимера, необходимого для защиты коллоидного золота против солевой агрегации) с данными селекции по морозостойкости сорта. Показано, что значения «золотого числа» различаются в 2-4 раза для разных сортов ячменя. Тест на определение «золотого числа» является общедоступным практически в любой лаборатории, использующей коллоидное золото. Более того, данный тест является экспрессным и не требует специального оборудования для визуализации результатов. Визуальная оценка значения «золотого числа» была подтверждена спектрофотометрическими измерениями и построением зависимости оптической плотности на длине волны 620 нм от концентрации РНК (CVAI).

В качестве перспективы дальнейших исследований планируется определение концентрации катионов магния в препаратах РНК, а также хроматографическое разделение тотальной РНК зрелых семян на отдельные фракции РНК. Данные эксперименты будут направлены на выяснение механизмов влияния структуры и состава РНК на ее стабилизирующие свойства по отношению к коллоидному золоту. Конечным результатом работы является разработка диагностической тест-системы на определение морозостойкости сорта.

## **АНТИМИКРОБНЫЕ БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ – ВАЖНЕЙШИЕ ФАКТОРЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА РАСТЕНИЙ**

*Рогожин Е.А., Егоров Ц.А.*

Учреждение Российской академии наук Институт биоорганической химии  
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва  
E-mail: [rea21@list.ru](mailto:rea21@list.ru)

В ходе своего эволюционного развития растения выработали целый ряд защитных соединений, которые активно используются в иммунитете к патогенным организмам (бактериям, грибам, вирусам, вириодам и нематодам). К растениям применимо понятие «врожденный иммунитет», представляющий собой сложную систему защиты организма от патогенов, которая выражается в наследственной невосприимчивости к чужеродным организмам, сформировавшейся в результате длительной совместной эволюции.

Защитные белки и пептиды с широким спектром антимикробной активности являются ключевыми факторами, которые обеспечивают реализацию врожденного иммунитета растений. Данные молекулы способны активно действовать в ответ на внедрение патогенного организма. К защитным белкам относятся полипептиды, подавляющие рост и развитие патогенных организмов на поверхности или внутри растения. Изучение функциональной роли факторов врожденного иммунитета растений к болезням и вредителям имеет принципиально важное как фундаментальное, так и прикладное значение, поскольку потери урожая, вызванные патогенами, могут достигать 45%. При этом, помимо снижения уровня производства сельскохозяйственной продукции, патогенные организмы ухудшают еще и качество урожая.

Традиционные методы селекции не всегда эффективны из-за отсутствия соответствующих генов устойчивости, к тому же они достаточно трудоемки и длительны. Применение химических средств защиты растений в условиях современного сельского хозяйства представляет угрозу экологической безопасности и позволяет снизить потери урожая в среднем на 7%.

Антимикробные белки и пептиды представляют особый интерес для создания устойчивых форм растений, поскольку их гены могут быть непосредственно встроены в геном чувствительных к патогенам растений с использованием методов генетической трансформации. Помимо этого, антимикробные белки и пептиды, а также другие компоненты белковой природы растений рассматриваются в качестве альтернативы используемым пестицидам, что в перспективе может позволить сократить количество обработок химическими средствами и, тем самым, снизить их нагрузку на биоценоз. Кроме того, применение таких соединений может способствовать активному подавлению патогенных организмов, обладающих резистентностью к активно применяемым химическим средствам защиты растений.

## ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА АДАПТАЦИЮ БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI* К ПЕРОКСИДНОМУ СТРЕССУ

Самойлова З.Ю.<sup>1</sup>, Смирнова Г.В.<sup>1</sup>, Высочина Г.И.<sup>2</sup>, Октябрьский О.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь

<sup>2</sup>Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск

E-mail: samzu@mail.ru

Важный этап жизненного цикла грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* связан с пребыванием в кишечнике животных и человека. В процессе переваривания пищи кишечные бактерии могут прямо контактировать с экстрактами растений и полифенолами и участвовать в их метаболизме. На сегодняшний день сведения об антиоксидантных и прооксидантных эффектах растительных экстрактов на бактерии малочисленны.

Целью работы явилось исследование антиоксидантного действия водно-спиртовых экстрактов 14 растений на бактерии *E. coli*. Экстракты были предоставлены сотрудниками лаборатории фитохимии Центрального сибирского ботанического сада СО РАН.

Установлено, что предобработка бактериальных культур некоторыми экстрактами оказывала выраженное защитное действие на рост и выживаемость в условиях пероксидного стресса. Выявлена положительная связь между способностью экстрактов снижать бактериостатическое действие  $H_2O_2$  и их антиоксидантной активностью *in vitro* ( $r = +0.74$ ,  $p < 0.01$ ). Коэффициенты корреляции между исследованными параметрами АОО и содержанием флавоноидов и танинов в испытуемых экстрактах изменялись в пределах от +0.53 до +0.80,  $p < 0.01$ . В другой серии опытов у ряда экстрактов были обнаружены прооксидантные свойства, которые выражались в способности повышать экспрессию  $H_2O_2$ -индуцибельного гена *katG*, кодирующего каталазу-гидропероксидазу I (НРІ). В системе *in vitro* эти же экстракты образовывали пероксид с высокой скоростью. При этом скорость продукции пероксида коррелировала со способностью экстрактов снижать бактерицидное действие  $H_2O_2$  ( $r = +0.90$ ;  $p < 0.01$ ).

Наблюдаемое противоречие между способностью экстрактов продуцировать  $H_2O_2$  и их антиоксидантным эффектом является кажущимся, поскольку малые дозы пероксида обладают адаптивным действием и стимулируют экспрессию антиоксидантных генов, что защищает клетки от последующей экспозиции к высоким концентрациям  $H_2O_2$ .

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ-Урал № 10-04-96017 и гранта Президиума УрО РАН по Программе интеграционных исследований с СО РАН.*

## ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТАБОЛИЗМА ДВУХ ФОСФОНАТОВ БАЗИДИАЛЬНОЙ КУЛЬТУРОЙ С ПОЗИЦИЙ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

*Серягин В.О.<sup>1</sup>, Панкратов А.Н.<sup>1</sup>, Цивилева О.М.<sup>2</sup>, Учаева И.М.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

<sup>2</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

<sup>3</sup>Саратовский государственный технический университет, Саратов

E-mail: PankratovAN@info.sgu.ru

Глифосат ингибирует фермент EPSPS, необходимый для продукции ряда метаболитов. И если у растений, грибов бактерий значительная часть фиксируемого углерода проходит по этому биосинтетическому пути, то у млекопитающих этот путь вообще не обнаружен. Поэтому данный гербицид в разумных пределах безопасен для человека и животных. Следовательно, ингибирование глифосатом биосинтеза триптофана у патогенных микроорганизмов создает предпосылки создания новых лекарственных препаратов антибиотического действия.

Мы поставили задачу выяснить, проявляет ли метилфосфоновая кислота биологическое действие, аналогичное наблюдаемому у глифосата (ингибирование биосинтеза триптофана), в экспериментах с культурой базидиомицета *Lentinula edodes*.

Для реализации поставленной цели использованы квантовохимические расчеты на уровне теории B3LYP/6-311++G(3df,3pd) и оценка QSAR-свойств по атомным аддитивным схемам.

Анализ натурального порядка связей и связевых орбиталей, топологических свойств электронной плотности по Бейдеру, дипольного момента дало возможность прогнозировать бóльшую склонность глифосата подвергаться ферментативной деструкции с разрывом связи С-Р в процессе глубинного культивирования по сравнению с метилфосфоновой кислотой. Возможно, сравнительная реакционная способность двух фосфоносоединений в ферментативной реакции отчасти связана с большей гидрофильностью вещества, способствующей встраиванию молекулы в активный центр фермента, а также с более высокой поляризуемостью молекулы, позволяющей ей образовывать с реагентом или активным центром фермента ван-дер-ваальсов комплекс, предшествующий химическому превращению.

Чем менее прочна связь С-Р, тем успешнее происходит ингибирование триптофана. В случае глифосата скорость ферментативного процесса ингибирования биосинтеза триптофана превышает скорость реакции, протекающей при метаболизме вещества с разрывом связи С-Р. Обратное соотношение величин скорости процессов должно иметь место для метилфосфоновой кислоты.

## ПОЛУЧЕНИЕ АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВЫХ КУЛЬТУР БИФИДОБАКТЕРИЙ И ХАРАКТЕРИСТИКА ИХ СВОЙСТВ

*Сидоренко А.В., Новик Г.И.*

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск

E-mail: nastyasid.vbc@mail.ru

Пробиотические препараты и продукты питания на основе бактерий рода *Bifidobacterium* применяются для лечения и профилактики дисбиотических состояний на фоне и после антибиотикотерапии. Исходя из этого, важным свойством пробиотических штаммов бифидобактерий является устойчивость к антибиотическим препаратам, широко используемым в медицинской практике.

Цель данной работы – получение культур бифидобактерий, устойчивых к эритромицину и хлорамфениколу, и характеристика их биологических свойств.

Изучение устойчивости исходных штаммов *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* БИМ В-521, *B. angulatum* БИМ В-524, *B. animalis* subsp. *lactis* БИМ В-522 и БИМ В-523, выделенных из пробиотических препаратов и кисломолочных продуктов, к эритромицину и хлорамфениколу показало, что все культуры характеризовались высокой чувствительностью к этим антибиотикам.

Методом адаптации к присутствию в среде культивирования возрастающих концентраций соответствующих антибиотических веществ получены культуры бифидобактерий, устойчивые к эритромицину и хлорамфениколу. Признак антибиотикоустойчивости стабильно сохранялся в течение 5 месяцев хранения бифидобактерий методом субкультивирования, а также 10 пассажей культур без добавления в среду соответствующего антибиотика. При микроскопическом исследовании отличий в морфологии клеток исходных и антибиотикоустойчивых культур бифидобактерий выявлено не было. Штаммы бифидобактерий, устойчивые к эритромицину и хлорамфениколу, характеризовались изменениями динамики развития в питательных средах. В зависимости от штамма наблюдалось как увеличение скорости накопления биомассы и кислотообразования, так и снижение данных показателей. Существенных различий в продолжительности сквашивания молока, титре клеток и рН на момент образования сгустка между интактными и антибиотикоустойчивыми культурами бифидобактерий выявлено не было. В то же время исходные и антибиотикоустойчивые штаммы бифидобактерий отличались показателями протеолитической и  $\beta$ -галактозидазной активности. Культуры бифидобактерий, устойчивые к эритромицину, характеризовались повышенной устойчивостью к тепловому и кислотному стрессу, а культуры, устойчивые к хлорамфениколу, были менее устойчивы к действию этих стрессовых факторов. Существенных различий в антагонистической активности по отношению к штаммам *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* sp., *Lactobacillus* sp. между исходными и антибиотикоустойчивыми культурами бифидобактерий выявлено не было. Штаммы бифидобактерий, устойчивые к эритромицину и хлорамфениколу, непатогенны и перспективны для использования в пищевых и медицинских биотехнологиях.

## НИТРАТ КАК СИГНАЛ ДЛЯ РОСТА БОКОВОГО КОРНЯ

*Сидоренко Е.С., Харитонашвили Е.В.*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

E-mail: kleo80@yandex.ru

Нитрат как сигнальная молекула участвует в регуляции множества генов растений и является важным морфогенетическим фактором роста корневой системы. Сигнальные свойства нитрата интенсивно изучаются, однако физиологические ответные реакции на нитратный сигнал исследованы недостаточно. В данной работе показано, что 0.01-1.5 мМ  $\text{NO}_3^-$  в среде при выращивании стимулирует рост главного (ГК) и боковых корней (БК) растений *Zea mays* L., *Lycopersicon esculentum* Mill. и *Brassica oleracea* L. и влияет на образование БК *de novo* только у *Lycopersicon esculentum* Mill.: на фоне нитрата число БК возросло в 5 раз по сравнению с выращиванием на аммонийном источнике азота. По сравнению с выращиванием на среде с 0.75 мМ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , при кратковременной 0.5 и 1 ч экспозиции на растворы с 0.01, 0.1 и 1.5 мМ  $\text{KNO}_3$  относительная скорость роста БК *Zea mays* L. не изменялась, но достоверно возрастала уже при 4 ч экспозиции. Наблюдаемая ростовая реакция БК коррелировала с изменением уровня эндогенного содержания нитрата в корнях *Zea mays* L. после экспозиций по указанной выше схеме. В литературе обсуждаются различные гипотезы о механизмах передачи нитратного сигнала. На основании полученных в этой работе данных мы предполагаем, что помимо ANR1 и белка-трансцептора в передаче сигнала от  $\text{NO}_3^-$  может участвовать цитозольная концентрация нитрата. Возможно, проявление стимулирующего действия нитрата на рост корней связано с достижением некоторого порогового уровня цитозольной концентрации, который клетки воспринимают как сигнал.

## **ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПРИ АДАПТАЦИИ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ, ВЫРАЩЕННЫХ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO***

Синькевич М.С.

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва

E-mail: [sinkevich\\_m@mail.ru](mailto:sinkevich_m@mail.ru)

При гипотермии у холодостойких и, особенно, теплолюбивых растений повреждения начинаются, прежде всего, с развития окислительного стресса, основными этапами которого являются образование АФК и повреждение ими различных биополимеров. При этом необходимым этапом развития устойчивости становится повышение эффективности антиоксидантной системы, предотвращающей эти повреждения.

В данной работе изучали динамику активностей ключевых ферментов антиоксидантной системы (супероксиддисмутаза, каталазы, гваякол и аскорбат пероксидазы) у типичного представителя холодостойких растений – картофеля (*Solanum tuberosum* L. cv. Désirée). Растения выращивали в течение 5 недель в культуре *in vitro* на питательной среде Мурасиге и Скуга в камере фитотрона ИФР РАН при 16-часовом фотопериоде и освещенности 100 моль квантов/(м<sup>2</sup>·с). Адаптацию проводили при температуре 5°C в течение 6 суток при той же продолжительности освещения.

Поскольку в начальной стадии вегетации картофель может подвергаться действию низких температур, а его стратегия адаптации состоит в сохранении надземной части, активности антиоксидантных ферментов измеряли в листьях. На каждую пробу брали листья 3-5 растений, расчет среднего и стандартной ошибки проводили на основании данных трех повторностей.

У растений, не подвергавшихся низкотемпературному воздействию, активность гваякол пероксидазы превосходила активности двух других расщепляющих перекись водорода ферментов в девять раз. В результате действия адаптирующей температуры 5°C в активностях каталазы и аскорбат пероксидазы наблюдались существенные колебания, преимущественно в сторону уменьшения. Низкие уровни активностей этих ферментов были обнаружены на вторые-третьи сутки воздействия. При этом наблюдался стабильный прирост активности гваякол пероксидазы с первого и до шестого дня адаптивного воздействия. Таким образом, следует отметить перераспределение функциональных ролей ферментов, расщепляющих перекись водорода, в пользу менее чувствительной к температуре гваякол пероксидазы. За счет этого адаптированные растения картофеля лучше препятствуют накоплению перекиси водорода при стрессе.

Активность супероксиддисмутаза снижалась к третьим суткам охлаждения, однако восстанавливалась к концу периода адаптации. По-видимому, для картофеля более выгодно полагаться на альтернативную супероксиддисмутазе линию защиты – на низкомолекулярные антиоксиданты.

## ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО МЕТАНОЛА НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

*Степанов С.С., Золотарева Е.К.*

Институт ботаники им. М. Г. Холодного, Киев, Украина

E-mail: membrana@ukr.net

Биомасса одноклеточных зеленых водорослей рассматривается, как перспективное сырье для биотехнологических и фармацевтических производств. Повышение производительности фотосинтезирующих культур для получения биомассы может быть достигнуто за счет улучшения обеспечения углеродом. С этой целью наиболее широко используют продувку культуры воздухом с повышенным содержанием CO<sub>2</sub> или добавление бикарбонату в среду. Однако такие методики культивирования имеют ряд недостатков и высокую стоимость.

Испытание альтернативных источников углерода является необходимым направлением при создании современных биотехнологических регламентов культивирования одноклеточных зеленых водорослей. Раньше было установлено, что добавление метанола в небольших количествах приводит к значительному повышению прироста биомассы микроводоросли *Scenedesmus obliquus*.

Целью нашего исследования было выучить действие метилового спирта на рост, пигментный состав и эффективность фотосинтетического превращения энергии клетками зеленых водорослей *Chlamydomonas reinhardtii* и *Chlorella vulgaris*.

Максимальный прирост сухой биомассы для *C. reinhardtii* увеличивался на 15%, концентрация клеток в камере Горяева повышалась на 30% для вариантов с добавлением метанола в среду культивирования. В случае *C. vulgaris* прирост биомассы увеличивался лишь на 4% с ростом концентрации клеток на 10%. Влияние на рост микроводорослей сопровождалось улучшением максимальной эффективности фотохимических реакций (Fv/Fm) и увеличением скорости электронного транспорта в хлоропластах (qP). Метанол вызывал также повышение концентрации хлорофиллов а и b без изменения их соотношения для *C. reinhardtii*, в случае *C. vulgaris* уменьшалась концентрация хлорофилла b.

Полученные результаты позволяют утверждать, что стимулирующее влияние метанола реализуется за счет улучшения физиологического состояния фотосинтетического аппарата, причем изменение соотношения хлорофиллов а и b в случае *C. vulgaris* отрицательно влияет на показатели роста.

## **ИЗМЕНЕНИЕ РОСТА И РАЗВИТИЯ ПЕРВИЧНОГО КОРНЯ *ARABIDOPSIS* ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

*Стриж И.Г., Буглак А.А.*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

E-mail: [irina.strizh@mail.ru](mailto:irina.strizh@mail.ru)

Одним из эффектов абиотических стрессов является торможение и переориентация роста растения. Существует мнение, что гиперпродукция активных форм кислорода (АФК) является общим молекулярно-физиологическим ответом на стрессы. В частности, считают, что морфогенетические изменения в условиях абиотических стрессов тесно связаны со сверхпродукцией АФК. Вместе с тем хорошо известно, что супероксидный анион радикал требуется для удлинения клеток растений и участвует в регуляции элонгации. В настоящей работе была проанализирована продукция супероксида корнями проростков *Arabidopsis*, подверженных различным стрессовым воздействиям. Сульфат меди, который провоцирует окислительный стресс, приводил к торможению роста корня, инициации многочисленных корневых волосков и усилению продукции супероксида в кончике корня. Высокие концентрации NaCl приводили также к торможению роста растений, но значительно подавляли продукцию супероксида в кончике корня, однако стимулировали его образование в зоне шейки корня. Салициловая кислота, которая является одним из регуляторов роста растений в ответ на воздействие абиотических или биотических стрессов также приводила к значительному ингибированию роста растений. Считают, что причиной этих изменений является нарушение метаболизма АФК, а именно ингибирование каталазы и пероксидаз. Однако мы не обнаружили сверхпродукции АФК в корнях проростков, выращиваемых в присутствии высоких концентраций салициловой кислоты. Можно предположить, что работа пероксидаз, ингибитором которых является салициловая кислота, необходима для продукции супероксида в клетках корня и, соответственно, для роста растением. Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что, несмотря на схожие эффекты различных стрессовых факторов, проявляющиеся в торможении и реориентации роста корня, механизм реагирования растений, в частности продукция АФК, существенно различается. Таким образом, высказанная ранее гипотеза о том, что АФК контролируют архитектуру растений в условиях абиотических стрессов посредством индукции окислительного стресса, представляется маловероятной. Исходя из полученных результатов, можно предположить, что рост проростков *Arabidopsis*, в том числе и рост первичного корня существенно нарушается не только при избытке продукции АФК, но и в случае перераспределения их места образования, а также при подавлении продукции АФК, в частности, супероксидного аниона радикала.

## АКТИВАЦИЯ АНТИОКСИДАНТНЫХ ГЕНОВ *ESCHERICHIA COLI* ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ 2,4,6-ТРИНИТРОТОЛУОЛА

Субботина А.В., Яковлева Г.Ю., Кормильцева И.П., Куриненко Б.М.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

E-mail: Yakovleva\_Galina@mail.ru

Токсический эффект 2,4,6-тринитротолуола (ТНТ), труднорастворимого нитроароматического соединения, связан не только с присутствием в среде культивирования ксенобиотика и (или) продуктов его микробной трансформации, но и с внеклеточной аккумуляцией активных форм кислорода (АФК), образующихся на первом этапе его трансформации. В нормальных условиях наличие антиоксидантной защиты позволяет клеткам поддерживать внутриклеточную концентрацию оксидантов на безопасном уровне. Превышение скорости продукции АФК над скоростью их детоксикации может приводить к окислительному стрессу, вызывающему повреждение и гибель клеток. Целью данной работы является оценка воздействия ТНТ на активацию генов, ответственных за нейтрализацию окислительного стресса.

Объектом исследования служили инженерные штаммы *Escherichia coli* TN521, QC772, NM122, MN23 и MN33 дериваты дикого типа *Escherichia coli* K12, у которых гены *soxR<sup>+</sup>soxS*, *soda*, *gor*, *katG* и *katE* лигированы с *lacZ*, соответственно. Вследствие этого об экспрессии данных генов судили по уровню активности β-галактозидазы.

Все исследуемые штаммы оказались способными трансформировать ТНТ (100 мг/л). Под воздействием ТНТ активность генов регулона *soxRS* и *soda* возрастала на протяжении всего времени инкубирования и достигала максимального значения к 100 мин. Известно, что *soda* находится под контролем двухкомпонентной системы *soxRS*, одним из главных индукторов которой является супероксидный анион. Повышение экспрессии одновременно обоих генов свидетельствует о том, что в результате трансформации ТНТ в клетках накапливается супероксид-анион. В отличие от генов регулона *soxRS* и *soda* максимальная активность каталаз, которые кодируются генами *katG* и *katE*, наблюдалась на первых 20 мин. инкубирования. Уровень активности генов клеток опытного варианта в 1.5-2 раз превышал контроль. Активность гена *gor* (кодирует глутатионксидоредуктазу) в контроле оказалась невысокой. Под действием ТНТ наблюдалось увеличение активности в 2 раза на 20 мин. инкубирования. Следует отметить, что максимальная скорость трансформации ТНТ наблюдается именно в первые 20 мин. инкубирования, что, вероятнее всего, приводит к высокой генерации перекиси водорода, в детоксикации которого участвуют как каталазы, так и восстановленный глутатион. Этим, скорее всего, и объясняется высокий уровень каталаз и глутатионксидоредуктазы в присутствии ТНТ в первые минуты инкубирования.

## **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИСАХАРИДОВ КАПСУЛЫ БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM LIPOFERUM* SP59B, ВЫРАЩЕННЫХ НА РАЗНЫХ СРЕДАХ**

*Суркина А.К., Бойко А.С., Коннова С.А., Игнатов В.В.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: surkina-ak@mail.ru

Известна способность азотфиксирующих бактерий рода *Azospirillum* продуцировать экстраклеточные полисахариды, которые функционально важны для формирования симбиотических ассоциаций с растениями-хозяевами и адаптации микроорганизмов к существованию в разных экологических нишах. Целью нашей работы было исследование влияния условий культивирования на моносахаридный и биополимерный составы экзогликанов бактерий *Azospirillum lipoferum* Sp59b.

Бактерии выращивали на стандартной среде с малатом Na (соотношение C:N составляло 2:1), а также на среде с фруктозой (соотношение C:N составляло 10:1), причем во втором случае варьировали источники азота в среде ( $KNO_3$  и  $NH_4Cl$ ) и время культивирования (24 и 72 ч). Смывтый с поверхности клеток 0.15 М NaCl капсульный материал подвергали хроматографическому разделению и получали соответствующие препараты липополисахарид-белковых комплексов (ЛПБК): ЛПБК-1 – Fru: $NH_4Cl$  10:1, 24 ч; ЛПБК-2 – Fru: $NH_4Cl$  10:1, 72 ч; ЛПБК-3 – Fru: $KNO_3$  10:1, 72 ч; ЛПБК-4 [1] – малат Na: $NH_4Cl$  2:1, 24 ч). Анализ биополимерного состава ЛПБК-1, ЛПБК-2, ЛПБК-3 ЛПБК-4 выявил отличия в содержании углеводов (44.5, 69.9, 88.3 и 40.0%, соответственно) и белка (14.6, 14.8, 7.1 и 7.0%). Анализ состава жирных кислот (ЖК) всех исследуемых макромолекул показал преобладание 3-гидроксидекановой, гексадекановой, 3-гидроксигексадекановой, октадеценновой ЖК. Кроме того, в составе ЛПБК-1, ЛПБК-3 и ЛПБК-4 обнаружены гексадеценновая и нонадекановая ЖК. ЛПБК-1 и ЛПБК-4 продемонстрировали наличие общих антигенных детерминант, в отличие от ЛПБК-2 и ЛПБК-3, что послужило причиной исследования структуры полисахаридных компонентов последних. По данным ГЖХ ацетатов полиолов и ГЖХ-МС частично метилированных ацетатов полиолов, в составе полисахаридов ЛПБК-2 и ЛПБК-3 были выявлены остатки рамнозы (Rha) и глюкозы (Glc), однако положения замещения их в исследуемых комплексах отличались. В ЛПБК-2 были идентифицированы 3,4-дизамещенная Rha, 4-замещенная Glc и терминальная Glc, в то время как в ЛПБК-3 обнаружены 2,3-дизамещенная Rha, 3-замещенная Rha и терминальная Glc.

Таким образом, установлено, что условия культивирования бактерий оказывают существенное влияние на биополимерный состав и структуру полисахаридной части молекулы ЛПБК.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (08-04-00669).*

1. Смолькина О.Н. с соавт. // Биохимия. – 2010. – Т. 75, № 5. – Р. 707-716.

## АССИМИЛЯЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ДРОЖЖЕЙ ХВОЙНОГО ОПАДА

Томашевская М.А.

Всероссийская коллекция микроорганизмов,  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,  
Пушино  
E-mail: tommand@rambler.ru

Представители родов *Cryptococcus* и *Trichosporon*, доминирующие в еловом опаде, способны в качестве источников углерода и азота усваивать широкий спектр соединений, таких как моно-, ди-, олиго-, аминсахара, полиолы, органические кислоты. Полученные изоляты этих дрожжей утилизируют также различные ароматические соединения, являющиеся биогенетическими предшественниками или продуктами разложения лигнина, одного из основных компонентов елового хвойного опада. Виды *Cr. taiwanensis*, *Cr. terreus*, *Tr. moniliiforme*, *Tr. jirovecii*, *Tr. porosum*, *Tr. cutaneum*, *Tr. lignicola* растут на таких соединениях, как *m*-оксибензойная, *p*-оксибензойная, 2,5-дигидроксибензойная кислоты, гидроксихинон и фенол. Указанные кислоты, однако, не усваиваются дрожжами при наличии у них метоксильных групп. Фенол активно утилизируется представителями рода *Trichosporon*, которые способны расти при концентрации его в среде до 1.0 г/л. Виды этих и других родов могут участвовать в разложении восков кутикулы хвои, о чем свидетельствует наличие липазной активности у *Cr. carnescens*, *Cr. perniciosus*, *Leucosporidium scottii*, *Tremella encephala*, *Tr. cutaneum*, *Tr. lignicola*, особенно значительной у *Tr. jirovecii* и *Tr. porosum*. Ксиланазная активность найдена у *Cr. albidus* var. *ovalis*, *Cr. carnescens*, *Cr. perniciosus*, *T. encephala*, а полигалактуронозная отмечена у *Tr. lignicola* и *Tr. cutaneum*. Вышеперечисленными активностями, а также пектиназной, характеризовались *Tr. moniliiforme*, *Tr. jirovecii* и *Tr. porosum*.

## **ВЛИЯНИЕ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА ЭНДОФЕРМЕНТЫ ЭЛОДЕИ КАНАДСКОЙ**

*Трегуб А.С.<sup>1</sup>, Турковская О.В.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

<sup>2</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: [annatregub@mail.ru](mailto:annatregub@mail.ru)

Поступление в естественные и искусственные водоемы сточных вод и отходов, образующихся в результате хозяйственной деятельности человека, приводит к накоплению в воде и осадках ароматических углеводов. Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) являются компонентами нефти и, несмотря на их низкую растворимость в воде, обладают острой токсичностью и мутагенностью в отношении живых организмов. Эти ксенобиотики могут воздействовать на растения на клеточном и субклеточном уровнях. При этом физиологические изменения в клетках макрофитов могут быть обнаружены раньше, чем морфологические.

В результате проведенных исследований с вытяжкой элодеи канадской на наличие ферментативной активности при различных рН и по влиянию на эти показатели нафталина, фенантрена и флуорена были выявлены пероксидазная, тирозиназная и оксидазная активности. Все детектируемые ферменты были устойчивы в диапазоне рН 5.0-9.0 в течение 3 ч инкубирования. Исследуемые ПАУ оказывали неоднозначное влияние на растительные эндоферменты. Флюорен и фенантрен увеличивали активность тирозиназы при всех рН и снижали оксидазную активность. Нафталин не проявлял выраженной активности по отношению к данным ферментам. Таким образом, было показано, что ферментные системы элодеи канадской взаимодействуют с представителями ПАУ, что может служить предпосылкой для дальнейших исследований детоксикационного потенциала растения.

## **ДЕЙСТВИЕ НА ДРОЖЖЕВЫЕ МИТОХОНДРИИ SKQ (ПРОИЗВОДНЫХ ПЛАСТОХИНОНА, СОЕДИНЕННЫХ С ЛИПОФИЛЬНЫМ КАТИОНОМ)**

*Тренделева Т.А., Суханова Е.И.*

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва

E-mail: [tatiana-trend@mail.ru](mailto:tatiana-trend@mail.ru)

Существуют множество теорий старения, наиболее популярной до сих пор остается свободнорадикальная теория старения, согласно которой патологиям, связанным со старением, способствует окислительный стресс, вызванный активными формами кислорода. Неоднократно делались попытки замедлить старение с помощью антиоксидантов. Наиболее успешным с этой точки зрения оказалось использование MitoQ, состоящего из коэнзима Q, обладающего антиоксидантной активностью, связанного алифатической цепью с трифенилфосфонием, липофильным катионом, транспортирующимся в митохондрии. Эти митохондриально-направленные антиоксиданты имеют существенное преимущество перед «обычными» антиоксидантами, поскольку накапливаются в митохондриях в соответствии с величиной потенциала, генерируемого на митохондриальной мембране, в результате чего их концентрация в митохондриях увеличивается на три порядка, регенируются компонентами дыхательной цепи и имеют очень высокий (~13000) коэффициент распределения в мембране. Это позволяет использовать их в очень низких, нетоксичных концентрациях. В лаборатории академика В.П. Скулачева была синтезирована серия усовершенствованных митохондриально-направленных липофильных антиоксидантов, получивших название SkQ (от Skulachev's ions), в которых коэнзим Q был заменен на пластохинон, компонент фотосинтетической цепи переноса электронов, обладающий большей антиоксидантной активностью. На ряде биологических моделей была показана большая эффективность SkQ по сравнению с MitoQ. Используя прочно-сопряженные митохондрии дрожжей, мы подробно исследовали свойства ряда производных SkQ и показали, что в низких микромолярных концентрациях они являются антиоксидантами и «слабыми» разобщителями, потенцирующими при этом разобщающее действие насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. В более высоких концентрациях они ингибируют дыхание митохондрий, а в еще больших – вызывают их набухание (детергентное действие). Показана перспективность использования производных SkQ, не содержащих пластохинона, для репарации клеточных функций, поврежденных в результате окислительного стресса. Эффект основан на отсутствии у таких производных прооксидантной активности и, кроме того, на их способности вызывать «мягкое» разобщение митохондрий, что приводит к многократному уменьшению продукции активных форм кислорода митохондриями (основными источниками активных форм кислорода в клетке).

## БАРНАЗА И БАКТЕРИАЛЬНЫЙ «АПОПТОЗ»

Ульянова В.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

E-mail: uyanova.vera@gmail.com

Программируемая клеточная смерть (ПКС) – широко распространенное явление не только в мире эукариот, но и прокариот. У бактерий ПКС выполняет защитную функцию, препятствуя распространению фагов в популяции и поддерживая стабильность генома путем элиминации инфицированных или мутантных клеток. Кроме того, апоптозоподобные процессы являются важным аспектом адаптации бактерий к стрессу, вызванному недостатком питательных веществ. В условиях голодания часть популяции подвергается автолизу, обеспечивая питательным субстратом оставшуюся часть клеток. У *Bacillus subtilis* «апоптоз» сопряжен с процессом спорообразования и контролируется фактором транскрипции Spo0A.

В наших исследованиях было установлено, что белок Spo0A регулирует экспрессию гена гуанилспецифичной рибонуклеазы *B. amyloliquefaciens* (барназы), синтез которой осуществляется в стадию замедления роста, а максимальное накопление в культуральной среде соответствует началу стационарной фазы. В промоторе гена барназы были обнаружены потенциальные сайты связывания Spo0A белка. Показано, что в штаммах *B. subtilis* с делецией гена *spo0A* синтез рибонуклеазы *B. amyloliquefaciens* невозможен. С использованием других мутантных штаммов со Spo0A-дефектным фенотипом (*spo0E*, *spo0A/abrB*, *kinA*) установлено, что ген барназы активируется небольшими количествами Spo0A регулятора. Присутствуя в клетках в стадии замедления роста в малых дозах, активный Spo0A белок контролирует ряд процессов, в том числе и бактериальный «апоптоз».

Многие бактериальные ПКС-системы состоят из белков, обладающих токсическими свойствами, и защитных иммунных белков. Цитотоксические свойства барназы подтверждены экспериментально и находят практическое применение в биотехнологии. Также известно, что *B. amyloliquefaciens* наряду с барназой образует ее специфический ингибитор – барстар. Таким образом, существуют как теоретические, так и экспериментальные предпосылки к тому, что гуанилспецифичная рибонуклеаза *B. amyloliquefaciens* участвует в апоптозоподобном процессе, активируемом в условиях стресса. На основе биоинформационного анализа геномов *B. subtilis* и *B. amyloliquefaciens* проведено сопоставление компонентов ПКС у этих бактерий, а также предложен механизм «апоптоза» у *B. amyloliquefaciens*, вовлекающий барназу и ее внутриклеточный ингибитор барстар.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы ГК № П323 и Молодежного гранта РТ № 14-24/2010(Г).*

## ПОВЕДЕНИЕ БЕЛКОВ TnrA, GlnK, GS В КЛЕТКАХ *BACILLUS SUBTILIS* В УСЛОВИЯХ АЗОТНОГО ГОЛОДАНИЯ

Федорова К.П., Каюмов А.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

E-mail: ksunchik-@mail.ru

В условиях недостатка азота фактор транскрипции TnrA в клетках *Bacillus subtilis* активирует гены, ответственные за ассимиляцию альтернативных источников азота. В этих условиях TnrA связан с мембраной посредством белков GlnK-AmtB. Белок AmtB транспортирует в клетку ионы аммония. GlnK – небольшой белок, который регулирует активность AmtB. При избытке доступного азота глутаминсинтетаза GS формирует белковый комплекс с TnrA, снижая его способность взаимодействовать с ДНК. Ранее было показано, что при полном истощении источника азота в среде локализация TnrA становится цитозольной, и он быстро элиминируется из клеток. Целью данного исследования явилось установить ответ белков GS и GlnK, участвующих в регуляции азотного метаболизма бацилл, на удаление источника азота из среды.

Было исследовано поведение белков TnrA, GlnK и GS в условиях истощения источника азота в клетках *B. subtilis* 168 и в штаммах *B. subtilis*, дефектных по белкам GlnK и AmtB. В клетках *B. subtilis* 168, дегградация TnrA наблюдалась уже через 15 минут после удаления азота из среды. В штаммах *B. subtilis* ДamtB и *B. subtilis* ДglnK снижения содержания белка TnrA не наблюдалось. При этом количество белков GS и GlnK не изменялось в исходном штамме *B. subtilis* 168 и в штаммах, дефектных по генам *glnK* и *amtB*.

Изучали содержание белков TnrA, GlnK, GS в клетках *B. subtilis* 168 после истощения источника азота и дальнейшего инкубирования в среде без азота в течение 18 часов. Фактор TnrA, который исчезал после удаления азота, появлялся в клетках вновь на 4-й час инкубирования, при этом уровень белков GlnK и GS не изменялся в течение 18 часов. Также исследовали содержание белков при переносе клеток с богатой питательной среды на бедную среду без источника азота. При росте на среде LB ген *tnrA* неактивен, и отсутствуют белки TnrA, GlnK и AmtB. В этом случае белок TnrA обнаруживался в клетках всех штаммов после 18 часов культивирования. GlnK появлялся уже на 2-й час инкубации, а в *B. subtilis* ДamtB через 0.5 часа культивирования на среде без азота. Уровень GS оставался на исходном уровне во всех трех штаммах.

Таким образом, протеолиз фактора транскрипции TnrA является специфическим ответом клеток на условия истощения источника азота и не затрагивает другие белки системы регуляции азотного метаболизма клеток бацилл.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 годы».*

## **ВЛИЯНИЕ ИОНОВ СЕРЕБРА И ЖЕЛЕЗА В СОЧЕТАНИИ С СУСПЕНЗИЕЙ КЛУБЕНЬКОВЫХ КЛЕТОК НА ПРОРАСТАНИЕ СЕМЯН ГОРОХА**

*Чан Минь Куан, Егоров М.А.*

Астраханский государственный университет, Астрахань

E-mail: [tmquanrus@gmail.com](mailto:tmquanrus@gmail.com)

Прорастание семян представляет собой сложный и многоступенчатый процесс перехода организма от гетеротрофного к автотрофному типу питания. Установлено, что клубеньковые бактерии увеличивают энергию прорастания семян, всхожесть и массу проростков. Роль клубеньковых бактерий не ограничивается только удовлетворением потребности растений в азоте.

В стабилизации структуры и повышении активности ферментов большое значение имеют ионы металлов. Известно, что в качестве коферментов в формировании каталитической активности энзимов участвуют ионы железа, меди, марганца, магния, цинка, молибдена, никеля.

Известно, что активность нитратредуктазы, основная роль которой заключается в механизме азотфиксации, поэтому стабильность данного фермента снижается при недостатке кислорода, оптимальное содержание которого зависит от количества леглобина, имеющего в своем составе железо. В этой связи для нас важным было изучить сочетанное влияние ионов серебра, железа и вытяжки (экстракт) ризобий не только на прорастание семян гороха, но и на физиологию дальнейшего развития культивируемого гороха.

Цель исследований – изучить влияние суспензии ризобиальных клеток, выращенных на корне фасоли, ионов серебра и железа в качестве стимуляторов пробуждения и прорастания семян гороха.

В результате исследований наибольший эффект влияния наблюдали в третьем варианте опыта при концентрации иона железа 0.05 мг/л, где общая биомасса проростков составила 6.55 г, а в контроле 5.93 г. В остальных вариантах опыта биомасса заметно ниже контроля. Таким образом, из всех изученных концентраций – 0.05 мг/л ионов железа является наиболее эффективной для роста общей биомассы проростков. Незначительный эффект в тех же условиях инкубации семян при той же концентрации железа наблюдали по измерению биомассы побега, которая составила 5.80 против контроля 5.43 г.

При той же концентрации ионов железа отмечено существенное увеличение биомассы корней, которая равна 0.74 против контроля 0.49 г.

Важным показателем развития является длина побегов и корня. В опыте длина обеих частей проростков заметно выше по сравнению с контролем.

В итоге проведенных экспериментальных работ предварительно можно считать, что ионы серебра и железа стимулируют прорастание семян гороха опосредованно за счет активации биологических веществ азотобактера, которые прямо влияют на развитие гороха в процессе их проращивания. Также предполагается, что механизм этого влияния заключается в повышении активности ферментов, в структуре молекул которых ионы серебра и железа, видимо, выполняют роль кофакторов.

## ХАРАКТЕРИСТИКА КАПСУЛЬНОГО ПОЛИСАХАРИДА БАКТЕРИЙ *HERBASPIRILLUM SEROPEDICAE Z78*

*Шишонкова Н.С., Смолькина О.Н., Игнатов В.В.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: Natalya.64.84@mail.ru

Бактерии рода *Herbaspirillum* – эндофитные ассоциативные азотфиксаторы являются перспективным модельным объектом для изучения растительно-микробной ассоциации. Одним из основных компонентов бактериальной клетки является капсула. Капсульные полисахариды (КПС) играют важную роль во взаимодействии растение-хозяин – микроорганизм. Данные по методам выделения и исследованию химического состава поверхностных гликополимеров *Herbaspirillum* практически отсутствуют. В связи с этим была поставлена задача выделить и охарактеризовать КПС бактерий *Herbaspirillum seropedicae Z78*.

Бактериальную культуру выращивали на жидкой синтетической среде с малатом и глюкозой до окончания экспоненциальной фазы роста. Капсульный материал смывали с поверхности клеток 0.9% раствором NaCl в течение 5 суток с ежедневной заменой отмывающего раствора, концентрировали и осаждали КПС добавлением ацетона в трехкратном объеме. Осадок растворяли и отделяли соли и пигменты хроматографией на колонке с Sephadex G-50. Получали высокомолекулярную фракцию КПС с выходом 0.68% от массы сухих микробных клеток. В результате анализа выделенного препарата в его составе были выявлены углеводы (10.7%), белок (2%), 2-кето-3-дезоксоктоновая кислота (КДО) (2.9%) и фосфор (5.0%).

Исследование методом ГЖХ после метилирования позволило идентифицировать в препарате КПС наличие насыщенных, ненасыщенных и гидроксикислот с длиной углеродной цепи от C<sub>12</sub> до C<sub>18</sub> с преобладанием 3-гидроксидедекановой, тетрадекановой и гексадекановой кислот. Методами ГЖХ в виде ацетатов полиолов и ТСХ в КПС обнаружены нейтральные моносахара – глюкоза, галактоза, манноза, а также неидентифицированный аминсахар и глюкозамин. Исследованием КПС методом SDS-ПААГ-электрофореза с последующим окрашиванием серебром на углеводы было установлено, что все макромолекулы сосредоточены в нижней части электрофоретического трека. Мягким кислотным гидролизом КПС с последующей хроматографией был получен полисахарид с выходом 41.7%. Методом ГЖХ в его составе идентифицированы Glc, Gal, Man в соотношении 7:3:1.

## **ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ АЦК-ДЕЗАМИНАЗЫ НА ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ЗАСОЛЕНИЮ ПОЧВЫ В ЛАБОРАТОРНЫХ И ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ**

*Шульга А.О., Сандрия М., Жардецкий С.С., Храмова Е.А.*

Белорусский государственный университет, Минск

E-mail: bastet0110@gmail.com

Растительный гормон этилен является важной сигнальной молекулой, участвующей во многих процессах, происходящих в растениях, включая прорастание, развитие цветков, созревание плодов. Однако большое количество этилена подавляет рост и развитие растений. Резко усиливается выработка этилена при стрессе и повреждении тканей.

Многие стратегии, используемые для повышения урожайности сельскохозяйственных растений, направлены на снижение количества этилена в растении. Бактерии, стимулирующие рост растений, синтезируют фермент, 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат-дезаминазу, способный регулировать уровень этилена в растении.

Для изучения роли ризосферных бактерий *Pseudomonas*, способных к сверхсинтезу АЦК-дезаминазы в формировании устойчивости растений к засолению почвы, семена томатов были высеяны во влажный грунт. После 1 недели роста рассада одинакового размера была пересажена в отдельные стаканчики объемом 150 мл. Спустя три дня рассада была разделена на 4 части. Одна часть была обработана 40 мл бактериальной суспензии *P. mendocina* 9-40 (pACD), другая часть – 40 мл бактериальной суспензии *P. mendocina*, третья часть – 40 мл среды, а четвертая часть – 40 мл дистиллированной воды. Затем рассада была обработана растворами NaCl в концентрации 172 мМ и 207 мМ. Результаты учитывали по истечении 5 недель.

Используемые концентрации хлорида натрия приводили к уменьшению длины стебля и корней, а также биомассы растений. Однако при внесении в почву суспензии бактерий *P. mendocina* 9-40 (pACD) степень подавления роста была ниже, и растения имели бóльшую массу, чем контрольные. Были получены следующие результаты: при концентрации соли 172 мМ опытные растения превосходят контроли по длине стебля до 1.2 раза, по длине корня до 1.2 раза, по массе до 1.4 раза; при концентрации соли 207 мМ – по длине стебля до 1.4 раза, по длине корня до 1.5 раза, по массе до 1.6 раза.

На втором этапе работы были проведены исследования в условиях, близких к производственным (теплица). Эксперимент проводился аналогичным образом. В результате были получены следующие данные: внесение в почву суспензии бактерий *P. mendocina* 9-40 (pACD) приводит к увеличению длины стебля до 7 раз, а длины корня до 10 раз.

Как видно из полученных результатов, бактерии *P. mendocina* 9-40 (pACD) значительно повышают устойчивость растений томатов к засолению почвы.

## ТРАНСФОРМАЦИЯ ИНДОЛА ГЛУБИННОЙ КУЛЬТУРОЙ ШИИТАКЕ

Юрасов Н.А.<sup>1</sup>, Цивилева О.М.<sup>2</sup>, Панкратов А.Н.<sup>1</sup>, Учаева И.М.<sup>3</sup>, Штыков С.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

<sup>2</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

<sup>3</sup>Саратовский государственный технический университет, Саратов

E-mail: [nik-yurasov@yandex.ru](mailto:nik-yurasov@yandex.ru)

Известно, что соединения индольной природы принимают участие в процессах роста и дифференцировки не только у растений (фитогормон индолил-3-уксусная кислота), но и у грибов. Однако в отношении класса грибов-базидиомицетов этот вопрос до сих пор остается практически не исследованным. Изучение роли соединений (в частности, оксиндола), отвечающих за пигментообразование и последующую дифференцировку клеток высших грибов, позволит расширить спектр фундаментальных знаний о регуляторных механизмах грибных культур.

В связи с этим целью настоящей работы явилось:

1. Получение на основе экстрактов образцов для хромато-масс-спектрометрического исследования соединений, синтезируемым грибом при его культивировании в присутствии индола.

2. Выявление направления биохимической трансформации индола соединений в процессе метаболизма.

Образцы мицелия гриба *Lentinula edodes* (шиитаке) выращивали глубинным способом на синтетической среде (*D*-глюкоза – 50 ммоль/л, *L*-аспарагин – 10 ммоль/л) при температуре 26°C в течение 28 суток в присутствии индола. По завершении процесса культивирования фильтраты культуральных жидкостей обрабатывали этилацетатом. Экстракт упаривали досуха при температуре 35°C и подвергали хромато-масс-спектрометрическому анализу.

В образцах с концентрацией добавки индола 0.1 г/л обнаружены индол и оксиндол (фталимидин). Если посевной материал предварительно подвергали холодному шоку, то, помимо названных соединений, зарегистрировано образование 1-(4-аминофенил)-1-пропанона (4'-аминопропиофенон).

Принимая значения калибровочных коэффициентов веществ одинаковыми, мы оценили мольное соотношение компонентов: в образце с использованием бесшокового посевного материала – индол : оксиндол = 5 : 1, в случае действия холодного шока – индол : оксиндол : 4'-аминопропиофенон = 36 : 6 : 1.

Общепринято мнение о том, что индольные производные грибов – продукты трансформации триптофана. Выявленный нами путь деградации индола для базидиомицетов не был известен.



# СЕКЦИЯ 3

## **МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПАРТНЕРОВ В СИМБИОЗАХ И АССОЦИАЦИЯХ**

## ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ *ESCHERICHIA COLI* С РАСТЕНИЯМИ

Алексеев А.Л., Маркова Ю.А., Омеличкина Ю.В., Граскова И.А.,  
Шафикова Т.Н., Романенко А.С.

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск  
E-mail: Alekseenko\_Ann@mail.ru

Известно, что любой высший организм представляет собой систему ниш для обширного микробного сообщества. Растения не являются исключением, более того, как и другие высшие многоклеточные организмы, они не способны выжить в их отсутствие [1]. В зависимости от локализации на растении микроорганизмы условно делят на ризосферные, эпифитные и эндофитные. Из них наименее изученными являются эндофиты, обитающие во внутренних тканях растения-хозяина. Установлено, что некоторые виды эндофитных бактерий принадлежат семейству *Enterobacteriaceae* и относятся к условно-патогенным для человека [2]. Однако до сих пор остаются неизученными многие вопросы, касающиеся проникновения и накопления условно-патогенных бактерий в растении, а также ответные реакции растений при взаимодействии с этими микроорганизмами.

В результате наших исследований было установлено, что условно-патогенная бактерия *Escherichia coli* (штамм XL-1Blue) способна проникать в ткани картофеля *in vitro*, распространяться по ним, а также сохраняться при последующем вегетативном размножении растений. Восприимчивый к возбудителю кольцевой гнили сорт картофеля колонизовался значительно быстрее по сравнению с устойчивым сортом. Наблюдался системный ответ растений картофеля на внедрение условно-патогенной бактерии посредством повышения активности общей пероксидазы. На суспензионных культурах клеток картофеля (*Solanum tuberosum*) и табака (*Nicotiana tabacum*) было показано, что *Escherichia coli* индуцировала у растений защитную реакцию в виде окислительного «взрыва». На растениях табака было выявлено, что на фоне системной приобретенной устойчивости, индуцируемой фитопатогеном *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, инокуляция *Escherichia coli* вызывала развитие реакции сверхчувствительности.

Все вышесказанное свидетельствует о том, что растения не являются пассивным резервуаром для условно-патогенной микрофлоры, их взаимодействие с этим микроорганизмом носит активный характер, проявляющийся в системной активации компонентов НАДФН-оксидазного сигнального пути.

1. Rosenblueth M. *et al.* // Mol. Plant-Microb. Interact. – 2006. – Vol. 19. – P. 827-83.
2. Tyler H.L. *et al.* // Annu. Rev. Phytopathol. – 2008. – Vol. 46. – P. 53-73.

## ИЗУЧЕНИЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM* В ВОДНЫХ СРЕДАХ

*Бурьгин Г.Л., Смолькина О.Н., Федоненко Ю.П., Хлебцов Б.Н., Щеголев С.Ю.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: gena@ibppm.sgu.ru

Липополисахариды (ЛПС) – уникальные макромолекулы грамотрицательных микроорганизмов, покрывающие большую часть поверхности бактериальной клетки. ЛПС играют важную роль в формировании стабильности бактериальной мембраны, ее нормальном функционировании, а также взаимодействии грамотрицательных бактерий как с макро-, так и микроорганизмами. Для понимания механизмов реализации молекулами ЛПС биологической активности нами было проведено изучение состояния этих амфифильных гликополимеров в водных системах.

В качестве объектов исследования были использованы растворы ЛПС штаммов *A. brasilense* S27, Sp245.5 и *A. lipoferum* Sp59b в различных буферных системах.

Результаты экспериментов по динамическому рассеянию света растворами ЛПС показали, что все препараты во всех используемых буферных системах образуют, по меньшей мере, два типа частиц: низко- и высокомолекулярные (диаметром менее 20 нм и более 100 нм, соответственно). Для расчета массовой доли каждого из этих типов частиц в растворе ЛПС *A. lipoferum* Sp59b было проведено осаждение центрифугированием крупных частиц с сохранением в супернатанте частиц мелкого размера. При этом оптическая плотность раствора снизилась примерно в 7 раз, но волновой экспонент изменился незначительно с 2.8 до 2.6. Таким образом, можно сделать вывод, что крупномолекулярная фракция в исходном растворе ЛПС *A. lipoferum* Sp59b вносит основной вклад в рассеяние света. В то же время центрифугирование привело к снижению концентрации углеводов в растворе всего на 25%. Следовательно, крупномолекулярная фракция частиц в растворе ЛПС *A. lipoferum* Sp59b имеет массовую долю примерно 0.25.

Также было определено, что в присутствии детергентов (третон X-100 либо ДСН) происходит незначительное уменьшение среднего радиуса частиц и повышение волнового экспонента. Результаты динамического рассеяния света свидетельствовали о сохранении полидисперсности системы растворов ЛПС в водной среде даже в присутствии детергентов.

Комплексный анализ результатов исследований позволяет предложить теоретическую схему формирования надмолекулярных комплексов ЛПС в водных системах.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (08-04-00669).*

## **ФОРМИРОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МОРФОТИПОВ ПРИ РАЗВИТИИ БАКТЕРИОЗОВ РАСТЕНИЙ**

Горшков В.Ю., Даминова А.Г., Агеева М.В., Петрова О.Е., Гоголев Ю.В.

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань

E-mail: gvy84@mail.ru

Большинство микроорганизмов, как в естественной среде обитания, так и в экспериментальных модельных системах, представлено различными клеточными морфотипами. Зачастую они отличаются по физиологическим и ультраструктурным параметрам от «типичных» вегетативных клеток, культивируемых в лабораторных условиях на стандартных питательных средах. Считается, что образование таких «нетипичных» форм микроорганизмов, а также комплексных бактериальных сообществ, способствует значительному увеличению вирулентности и адаптационного потенциала микробов. Особого внимания в последние годы заслужили сообщества бактериальных клеток, существующие в едином экстраклеточном матриксе, или «биопленки». Их исследование является одним из бурно развивающихся направлений медицины, поскольку термин «биопленка» ассоциируется с такими понятиями, как патогенность, агрессивность и резистентность.

Значительно меньшее внимание уделяется выяснению экологической роли биопленок и других бактериальных морфотипов у различных таксономических групп бактерий. Отслеживать формирование различных физиологических форм бактерий *in vivo* наиболее удобно при развитии бактериозов растений. На сегодняшний день существует ряд работ, посвященных описанию либо биопленок, либо покоящихся клеток внутри тканей растения-хозяина. Однако полный жизненный цикл микробной популяции внутри организма-хозяина, включая характеристику множества бактериальных морфотипов на разных этапах инфекции в различных тканях растения-хозяина, не описан. Мы приступили к решению этих вопросов, оценив ультраструктурные изменения у паразита и хозяина на модельной системе «табак / *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* SCRI1043».

При развитии эрвиниоза табака в тканях растения-хозяина мы обнаружили биопленки и формы, имеющие признаки покоящихся клеток. Образование этих бактериальных морфотипов проходило ткане- и стадия-специфично. Исходя из полученных данных, бактериальные биопленки в изучаемой модельной системе не являются ни главными агрессорами (продуцентами факторов вирулентности), ни субпопуляцией, адаптированной к переживанию стрессовых условий межвегетационного периода при завершении жизненного цикла. Последнее, по-видимому, обеспечивается бактериальными морфотипами, которые имеют признаки ранее описанных нами покоящихся клеток *in vitro*. Полученные результаты позволили нам разработать гипотетическую модель жизненного цикла микробной популяции при взаимодействии с растением-хозяином и расширить представление о роли различных бактериальных морфотипов при развитии инфекции.

## **ВЛИЯНИЕ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM* НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МЕРИСТЕМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК КОРНЕЙ ПШЕНИЦЫ**

*Дмитриенко В.В., Бурыгин Г.Л., Евсеева Н.В., Матора Л.Ю., Щеголев С.Ю.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: [evseeva@ibppm.sgu.ru](mailto:evseeva@ibppm.sgu.ru)

Липополисахариды (ЛПС) азоспирилл являются мажорными компонентами наружной мембраны грамотрицательных бактерий и претендуют на роль ключевых структур, обеспечивающих возникновение и развитие ассоциации с растительным партнером. Исследование функциональной роли ЛПС азоспирилл открывает перспективы исследования молекулярных механизмов, через которые реализуется стимуляция роста и развития растения-хозяина.

Целью работы являлось исследование функциональной активности клеток корневых меристем проростков пшеницы при их обработке ЛПС, изолированным из наружной мембраны бактерий штамма *Azospirillum brasilense* Sp245, в сравнении с инокуляцией целыми бактериальными клетками.

Функциональную активность меристематических клеток оценивали по результатам определения митотического индекса клеток и сравнительным иммунохимическим оценкам содержания в них пролиферативного антигена инициалей (ПАИ) – молекулярного маркера меристематических клеток пшеницы. Установлено, что инокуляция корней проростков пшеницы целыми бактериальными клетками ( $10^8$  кл./мл) приводила к увеличению митотического индекса меристематических клеток корня в 2 раза, а также к увеличению количества ПАИ в клетках примерно в 1.5 раза по сравнению с неинокулированными растениями. Обработка корневой системы проростков ЛПС в концентрациях 10 и 150 мкг/мл приводила к повышению митотического индекса меристематических клеток корня в 1.8 и 1.5 раза, соответственно. Уровень содержания ПАИ при этом достоверно увеличивался примерно в 1.5 раза. Инкубирование корней проростков в растворе ЛПС или инокуляция их бактериями также приводили к увеличению длины и сухой массы корневой системы проростков. На основании полученных результатов ЛПС можно рассматривать в качестве одного из активных компонентов клеточной поверхности азоспирилл – не только определяющего их контактные взаимодействия с корнями пшеницы, но и участвующего в процессах индукции ответных реакции растений на эти взаимодействия. Обсуждается также вопрос о связи ПАИ с трансдукцией гормонального сигнала в клетке и информативность его определения в качестве показателя эффективности растительно-бактериальных взаимодействий.

## УЧАСТИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТОВЫХ ПРОЦЕССОВ РАСТЕНИЙ

*Долинская Е.В., Валиулина А.Ф.*

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии СФУ, Красноярск

E-mail: ev\_dolinskaya@mail.ru

Между высшими растениями и микроорганизмами устанавливаются определенные взаимоотношения, характер которых зависит от физиологических особенностей и потребностей совместно развивающихся растений и микробиоты. В настоящее время все больший интерес вызывают почвенные микроорганизмы, которые оказывают стимулирующее действие на развитие растений. Помимо полезной микрофлоры в почве обитают фитопатогенные микроорганизмы, оказывающие пагубное воздействие на рост и развитие растений. Благоприятное влияние микроскопических грибов на растения включает в себя как опосредованную стимуляцию роста и развития растений за счет вытеснения и подавления почвенных фитопатогенов, так и непосредственную – за счет синтеза ростстимулирующих веществ, оказывающих влияние на метаболические процессы, протекающие в растениях.

Целью данной работы было выявить влияние микроорганизмов в регуляции ростовых процессов растений. В качестве объекта исследования использовали растения пшеницы и микроскопические грибы *Trichoderma asperellum* М 99/5. В опыте семена обрабатывали спорами гриба *Trichoderma*, титр  $10^8$ . Контролем служил вариант, где семена не подвергали обработке спорами данного гриба.

Определяли энергию прорастания, всхожесть, влияние микроорганизмов на физиолого-морфологические параметры растений, на содержание белков, углеводов, пигментов в растениях, площадь листовой пластинки, на термоиндуцированные изменения нулевого уровня флуоресценции хлорофилла (ТИНУФ).

На основании проведенных исследований установлено, что грибы рода *Trichoderma* оказывают стимулирующее действие на ростовые процессы пшеницы: увеличивается длина надземной и корневой систем, количество листьев и поверхность листовой пластинки, содержание сухой и сырой биомассы. Штамм *T. asperellum* М 99/5 влияет на активность метаболических процессов, протекающих в растениях. Грибы рода *Trichoderma* регулируют накопление зеленых пигментов в растениях, изменяют их соотношение в сторону увеличения хлорофилла *b*. Результаты ТИНУФ показали, что в обработанных спорами исследуемого гриба растениях отмечен более интенсивный захват световой энергии фотосистемой II, а также наблюдается изменение соотношения гранальных и агранальных структур хлоропластов в сторону увеличения доли относительного содержания хлорофилла в гранальных участках. Отмечено, что фотосинтетический аппарат растений пшеницы, обработанных *Trichoderma*, более устойчив к нагреванию.

## ЭФФЕКТЫ ГЕНОВ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СОИ НА ХЕМОТАКСИЧЕСКУЮ И РОСТОВУЮ РЕАКЦИЮ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*

*Жорняк Ю.В., Жмурко В.В.*

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Харьков, Украина  
E-mail: Jullia5@yandex.ru

Одним из факторов внешней среды, который определяет рост и развитие короткодневной культуры сои, является продолжительность фотопериода.

Фотопериодическая чувствительность сои детерминируется системой генов *E*-серии. Доминантное и/или рецессивное состояние локусов *E*-генов определяет уровень метаболических процессов у сои, от которого, вероятно, зависит интенсивность формирования и активность симбиотического аппарата. Известно, что эти процессы определяются количественным и качественным составом корневых выделений макропатнера.

Целью нашего исследования было выявить эффекты генов фотопериодической чувствительности сои на хемотаксическую и ростовую реакцию у штаммов *Bradyrhizobium japonicum*.

Материалом для исследований служили 7-суточные проростки сои сорта Clark с генотипом *E1E2E3* – короткодневные и генотипом *ele2e3* – фотопериодически нейтральные. В качестве микросимбионта служили контрастные по эффективности штаммы: Т6 – низкоэффективный симбионт, 634б – конкурентоспособный штамм, высокоэффективный симбионт. Определение хемотаксических способностей ризобий сои проводили полуколичественным методом на полужидкой среде с содержанием агара 0.35% (г/л):  $K_2HPO_4$  – 0.5,  $KH_2PO_4$  – 0.4,  $MgSO_4$  – 0.2, KCl – 0.1, агар – 3.5 и корневыми выделениями линий сои. В центр чашки Петри вносили 20 мкл суспензии бактерий. В качестве контроля использовали чашки, в которые вносили воду. Активность хемотаксиса оценивали по диаметру кольца (мм) и интенсивности роста (ИР) в нем бактерий. Определение прироста биомассы проводили при сокультивировании брадиризобий с корневыми выделениями. Контролем служили пробирки без внесения корневых выделений.

Результаты наших опытов показали, что оба штамма ризобактерий сои проявляли неспецифическую хемотаксическую способность к корневым выделениям сои. Штамм 634б проявлял большую хемотаксическую активность к корневым выделениям сои в сравнении с штаммом Т6. Эффективный симбионт и конкурентоспособный штамм 634б более интенсивно акцептирует и использует вещества-хемoeffекторы из корневых выделений сои, чем штамм Т6.

Хемотаксическая реакция у штаммов 634б и Т6 более интенсивная к корневым выделениям сои, несущим *E*-гены в рецессивном состоянии. Вероятно, что доминантное и/или рецессивное состояние *E*-генов определяет состав и количество корневых выделений, что является важным фактором формирования симбиоза.

## **Ca<sup>2+</sup>-ТРАНСПОРТЕРЫ СИМБИОСОМНОЙ МЕМБРАНЫ БОБОВ: Ca<sup>2+</sup>-АТФАЗА И Ca<sup>2+</sup>-КАНАЛ**

*Зартдинова Р.Ф., Крылова В.В., Измайлов С.Ф.*

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва

E-mail: [rosazartdinova@mail.ru](mailto:rosazartdinova@mail.ru)

Согласно современным представлениям потоки ионов кальция, регулируемые в клеточных мембранах Ca<sup>2+</sup>-транспортными системами, играют важную роль во взаимоотношениях партнеров азотфиксирующего симбиоза бобовых. До сих пор мало изучены свойства таких Ca<sup>2+</sup>-транспортных систем симбиотической мембраны (СМ), как Ca<sup>2+</sup>-АТФаза, Ca<sup>2+</sup>-канал. Данная работа и посвящена исследованию биохимических характеристик этих транспортных систем в корневых клубеньках бобовых.

В работе были использованы бобы (*Vicia faba* L., сорт Русские черные), инокулированные эффективным штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 501. Симбиосомы и везикулы СМ выделяли из корневых клубеньков бобов согласно методике, основанной на дифференциальном центрифугировании гомогената растительной ткани в градиенте плотности перкола, а затем сахарозы. Исследования проводили с использованием непроницающего через мембраны Ca<sup>2+</sup>-индикатора арсеназо III на препаратах симбиосом и везикул СМ, полученных из корневых клубеньков бобов.

Показано, что кинетика трансмембранной транслокации Ca<sup>2+</sup>-АТФазой Ca<sup>2+</sup> зависела от pH среды суспендирования везикул СМ. Максимальная активность фермента была при значениях pH 7.2, снижаясь в 6 раз при крайних выбранных значениях pH 6.0 и 8.0. Предпочтительным субстратом для энергообеспечения транспорта Ca<sup>2+</sup> через СМ являлась АТФ, но могли также использоваться и другие субстраты: ИТФ > ГТФ > УТФ > ЦТФ. Кажущаяся Km Ca<sup>2+</sup>-АТФазы для MgАТФ находилось в области 0.1-0.2 мМ. При низких концентрациях Ca<sup>2+</sup> в среде АТФ-зависимое поглощение этого катиона везикулами СМ заметно стимулировалось в присутствии кальмодулина – регулятора Ca<sup>2+</sup>-транспортных систем в животных и растительных клетках. Максимальный эффект его соответствовал двукратному увеличению скорости процесса по сравнению с контролем при относительно высоких насыщающих концентрациях этого белка.

Выявлено наличие потенциал-зависимых Ca<sup>2+</sup>-каналов в СМ, способных связывать или освобождать кальций в перибактероидном пространстве, что определяет формирование кальциевого статуса симбиосом. Быстрый выход Ca<sup>2+</sup> из симбиосом в среду инкубации наблюдался после добавления к ней валиномицина и ионов K<sup>+</sup> и подавлялся верапамилом – известным блокатором Ca<sup>2+</sup>-каналов клеточных мембран.

## ПОИСК ГЕНОВ АЦК ДЕАМИНАЗЫ У КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ

*Зиновкина Н.Ю., Белимов А.А., Сафронова В.И.*

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной  
микробиологии Россельхозакадемии, Санкт-Петербург

E-mail: sagaro87@mail.ru

1-аминоциклопропан-1-карбоновая кислота (АЦК) является непосредственным предшественником в биосинтезе фитогормона этилена, и при неблагоприятных условиях активный биосинтез этих веществ приводит к ингибированию роста растений. Путем снижения уровня фитогормона этилена можно стимулировать рост растений, особенно в стрессовых условиях. В начале 90-х годов было установлено, что некоторые бактерии, обитающие на корнях, содержат фермент АЦК деаминазу, который расщепляет АЦК до аммония и  $\alpha$ -кетобутирата (без образования этилена), а обработка корней этими бактериями стимулировала рост растений. Аминокислота АЦК, являясь компонентом корневых экссудатов, выделяется в ризосферу и бактерии используют ее в качестве источника питания. Это способствует снижению концентрации этилена в прикорневой зоне и устранению его ингибирующего эффекта на рост растения. Известно, что повышение концентрации эндогенного этилена препятствует образованию азотфиксирующего симбиоза бобовых растений с клубеньковыми бактериями. В связи с этим важным открытием стало обнаружение АЦК деаминазы у бактерий *Mesorhizobium loti*, *Rhizobium* sp. и *Sinorhizobium* sp., *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* и *Rhizobium hedysari*. Более детальные исследования показали, что у дефектных по АЦК деаминазе мутантов *R. leguminosarum* bv. *viciae* снижалась способность образовывать клубеньки [1], а перенос гена АЦК деаминазы (*acdS*) в штамм *S. meliloti*, не имеющий этого фермента, повышал его способность образовывать клубеньки [2]. Нами изучено распространение генов АЦК деаминазы у клубеньковых бактерий коллекции ВКСМ (С.-Петербург) путем амплификации гена АЦК-деаминазы с помощью ПЦР. Для амплификации *acdS* генов использовали дегенеративные праймеры [3], а также две пары специфических праймеров, сконструированных на основании анализа *acdS*-последовательностей штаммов, имеющих в базе данных NCBI. В результате *acdS* гены были обнаружены у 35 штаммов *R. leguminosarum* bv. *viciae*, *S. meliloti* и *Mesorhizobium* sp., что составляет 71% от всех тестируемых штаммов. Результаты убедительно показали, что АЦК деаминаза широко распространена у клубеньковых бактерий различных таксономических групп.

*Работа поддержана грантами РФФИ (06-04-49486-а и 09-04-01614-а) и CNR Италии (T4 AGR 2001-2, 3N60 AM7 2003-4, SMP2009/0030378).*

1. Ma W. *et al.* // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – Vol. 69. – P. 4396-4402.
2. Ma W. *et al.* // Appl. Environ. Microbiol. – 2004. – Vol. 70. – P. 5891-5897.
3. Hontzeas N. *et al.* // Appl. Environ. Microbiol. – 2005. – Vol. 71. – P. 7556-7558.

## **ВЛИЯНИЕ КВЕРЦЕТИНА И НАРИНГЕНИНА НА МАКРОМОЛЕКУЛЯРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM LIPOFERUM* SP59B**

*Каневский М.В., Коннова С.А., Бойко А.С., Игнатов В.В.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: room308@ibppm.sgu.ru

При выяснении молекулярного механизма формирования ассоциативных отношений между микроорганизмами и растениями актуальным остается вопрос о роли в молекулярном диалоге вторичных метаболитов фенольной природы. Целью данной работы было выявление изменений в строении липополисахаридов (ЛПС) ассоциативных diaзотрофных ризобактерий *A. lipoferum* Sp59b, индуцированных флавоноидами.

В предварительных экспериментах установлены бактерицидные концентрации в отношении азоспирилл нарингенина и кверцетина в диметилформамиде, которые составили 4 и 3 мг/мл, соответственно. Бактерии культивировали в жидкой малатной среде с кверцетином (0.3, 0.4, 0.5 мг/мл) и нарингенином (0.4, 0.5, 0.6 мг/мл). Клетки *A. lipoferum* Sp59b отмывали от капсульного материала, ЛПС выделяли ЭДТА-содержащим буфером из сырой биомассы. SDS-электрофорез полученных фракций проводили в 12.5% ПААГ. Визуализация результатов проводилась окрашиванием геля нитратом серебра с предварительным периодатным окислением углеводов. Установлено, что при добавлении в среду выращивания кверцетина, начиная с концентрации 0.4 мг/мл, в мембранном пуле ЛПС присутствовали как S- (молекулы с O-специфической цепью, причем различной длины), так и R-формы (углеводная часть молекулы представлена лишь коровым олигосахаридом) молекул. Результатом культивации бактерий в присутствии нарингенина (0.5 мг/мл) оказалось преобладание в экстрактах молекул ЛПС с длинной O-специфической цепью. Таким образом, впервые обнаружено, что добавление кверцетина и нарингенина в среду выращивания азоспирилл индуцирует изменения в структуре ЛПС, сказывающееся на макромолекулярной организации гликополимеров. Учитывая, что выбранные флавоноиды являются представителями группы широко распространенных вторичных метаболитов злаковых растений, а ЛПС азоспирилл участвуют в реализации молекулярных механизмов взаимодействия, полученные результаты открывают перспективы понимания роли флавоноидов в формировании ассоциации азоспирилл со злаковыми растениями.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (проект 08-04-00669).*

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ МИКРОБНЫХ КЛЕТОК ПО ОТНОШЕНИЮ К БАКТЕРИОФАГАМ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ЭЛЕКТРООПТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КЛЕТОЧНЫХ СУСПЕНЗИЙ**

*Караваяева О.А., Гулий О.И., Игнатов О.В.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: karavaeva@ibppm.sgu.ru

Изучены изменения электрофизических (ЭФ) свойств клеточных суспензий *E. coli* XL-1, *E. coli* BL-Ril, *E. coli* TG-1 и *E. coli* BL-21 (DE) при их инфекции бактериофагом M13K07 с помощью метода электрооптического (ЭО) анализа клеточных суспензий. ЭФ свойства клеток оценивали по ориентационным спектрам клеточных суспензий – зависимостям изменений оптической плотности, обусловленных электроориентацией клеток, от частоты ориентирующего поля в интервале 740, 1000 1450, 2000 и 2800 кГц. В результате проведенных исследований было показано, что специфические изменения ЭФ свойств клеточных суспензий под действием фага M13K07 происходят только у микробных клеток *E. coli* штаммов TG-1 и XL-1, у суспензий клеток *E. coli* BL-Ril и *E. coli* BL-21 (DE) значительных изменений ЭФ свойств под действием фага не происходит. Полученные результаты подтверждены в контрольных экспериментах инфицирования клеток бактериофагом с помощью стандартных методов посева клеток исследуемых штаммов на плотные питательные среды. Таким образом, показана возможность использования метода ЭО анализа клеточных суспензий для определения устойчивости микробных клеток по отношению к бактериофагам. Традиционные микробиологические методы определения фагочувствительности микробных клеток путем анализа фагов по способности развиваться на газоне тесторных бактерий длительны и трудоемки, поэтому использование метода ЭО анализа клеточных суспензий для оперативного решения данного вопроса имеет большие перспективы.

*Работа была частично поддержана грантом РФФИ № 09-02-12442-офи\_м.*

## **БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ МИЦЕЛИЯ И СРЕДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРИ СОВМЕСТНОМ ВЫРАЩИВАНИИ *LENTINUS EDODES* И *AZOSPIRILLUM BRASILENSE***

*Лощинина Е.А., Ветчинкина Е.П., Никитина В.Е.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: loshchinina@yandex.ru

*Lentinus edodes* (шиитакe) – съедобный базидиомицет с отличными вкусовыми и питательными качествами плодовых тел, являющийся источником ряда ценных биологически активных и лекарственных веществ. При производстве посевного мицелия базидиальных грибов важной проблемой является их слабая конкурентоспособность по отношению к посторонней микрофлоре. Внедрение биологических способов защиты мицелия позволило бы улучшить технологию выращивания, сократив время культивирования шиитакe и одновременно подавив рост контаминантов гриба. Известно, что совместные культуры обладают большей устойчивостью к негативным воздействиям окружающей среды по сравнению с монокультурами. Ранее мы обнаружили стимулирующее воздействие почвенных бактерий рода *Azospirillum* на рост и развитие *L. edodes* при их совместном культивировании.

С целью выявления возможной роли отдельных белков в проявлении стимулирующего эффекта азоспирилл на рост гриба нами проведен анализ белкового состава монокультуры *L. edodes* F-249 и выращенной в присутствии *A. brasilense* Sp7. Белковый состав изучали с помощью нативного электрофореза в ПААГ и тонкослойной хроматографии на силикагеле в системе растворителей н-бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4:1:1). Результаты показали различия в белковом составе культуральных жидкостей и экстрактов из мицелия монокультуры шиитакe и выращенной совместно с азоспириллой. При хроматографировании мицелиальных экстрактов выявлены характерные для обеих культур слабо выраженные белковые пятна с  $R_f$  0.04, 0.27, 0.34, 0.53 и четко выраженные с  $R_f$  0.05, 0.07, 0.19. Кроме того, в составе мицелия монокультуры *L. edodes* обнаружены еще два белка с  $R_f$  0.41 и 0.48.

Нативный электрофорез также выявил различия в белковом составе мицелиальных экстрактов. У двойной культуры наблюдалось появление белков с молекулярной массой около 70 кДа и двух высокомолекулярных белков около 200 и 300 кДа, отсутствующих в мицелии монокультуры.

Тонкослойная хроматография культуральных сред также показала различия в их составе. Для всех культур были характерны белковые пятна с  $R_f$  0.05, 0.14, 0.18, 0.23, 0.36 и 0.5. В культуральной жидкости монокультуры азоспириллы и совместной культуры обнаружены также пятна с  $R_f$  0.44, 0.56 и 0.6, отсутствовавшие у монокультуры *L. edodes*. Кроме того, у шиитакe наблюдалось пятно с  $R_f$  0.28, а у культуры азоспириллы – с  $R_f$  0.1.

Возможно, влияние азоспириллы связано с появлением специфических веществ белковой природы, ответственных за стимуляцию роста и развития гриба, что требует дальнейшего изучения.

## ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS* НА НЕКОТОРЫЕ ВИДЫ БАКТЕРИЙ

*Лукьянцев М.А., Хайруллин Р.М.*

Башкирский государственный аграрный университет, Уфа

E-mail: aidaho20@mail.ru

В настоящее время среди традиционных химических средств защиты растений от болезней прочное место заняли также биологические препараты. В качестве основы таких биофунгицидов часто выступают живые клетки, покоящиеся формы или биологически-активные метаболиты бактерий, способные подавлять развитие фитопатогенных грибов за счет синтеза и выделения в окружающую среду ряда антибиотиков, гидролитических ферментов и других веществ. Поиск и отбор бактериальных штаммов, пригодных для применения в качестве действующего начала таких биопрепаратов сопряжен с рядом трудностей. Одной из таких проблем является отсутствие корреляции между высокой антагонистической активностью штаммов *in vitro* и эффективностью использования их в качестве основы биофунгицидов в полевых условиях. Это явление может быть связано с негативным воздействием антагонистов на рост и жизнедеятельность полезной почвенной микрофлоры. В связи с этим мы провели оценку антагонистической активности двух эндофитных штаммов *Bacillus subtilis* по отношению к *Azospirillum lipoferum*, *A. irakense*, *Rhizobium leguminosarum*, *Azotobacter chroococcum*, *A. vinelandii*, *Pseudomonas aureofaciens* и *P. putida*. Эндофитный штамм *B. subtilis* 26D, основа биофунгицида фитоспорин-М, использовался в экспериментах как «эталон». Штамм *B. subtilis* 49PH был выделен из растений пшеницы в лаборатории биотехнологии БГАУ по признаку высокой антагонистической активности к фитопатогенным грибам. Мы выявили, что штамм 26D не проявлял заметного антагонизма ни к одному из 7 тест-объектов. Вместе с тем было отмечено сильное подавление роста бациллы со стороны *P. aureofaciens*. Штамм *B. subtilis* 49PH существенно подавлял рост *A. lipoferum*, *R. leguminosarum*, *A. chroococcum*, *A. vinelandii*. В то же время псевдомонада *P. aureofaciens* подавляла рост культуры штамма 49PH, но в меньшей степени, чем штамма 26D. Полученные результаты позволяют заключить, что высокая антагонистическая активность штамма *B. subtilis* 49PH может сдвигать баланс почвенной микрофлоры в сторону уменьшения количества азотофиксирующих микроорганизмов, в том числе способных формировать симбиотические взаимоотношения с растениями. Не исключено, что устойчивость антагониста к действию других бактерий может затруднить последующее восстановление популяций полезных микробов, например, азотофиксаторов.

Авторы выражают благодарность д.б.н. Антонюк Л.П. (ИБФРМ РАН, г. Саратов) и д.б.н., проф. Логинову О.Н. (ИБ УНЦ РАН, г. Уфа) за предоставленные образцы штаммов бактерий.

## АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ КОМПЛЕКСНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММОВ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАСТЕНИЙ ФАСОЛИ

*Маркова О.В., Гарипова С.Р.*

ГОУ ВПО «Башкирский государственный университет», Уфа

E-mail: o-ksana@list.ru

По мере накопления сведений об экологии эндофитных и клубеньковых бактерий и молекулярных механизмах их взаимодействия с растением появляется возможность направленно создавать микробные сообщества, обеспечивающие повышение продуктивности и устойчивости растений.

В полевых опытах бактериальные ассоциации, выделенные из клубеньков растений фасоли (*Phaseolus vulgaris* L.), способствовали повышению продуктивности и устойчивости растений к стрессовым факторам. Результаты таксономической идентификации эндофитных бактерий показали, что каждая ассоциация состояла из 2-5 штаммов, принадлежащих к видам *Rhizobium leguminosarum* (420, 530 и 621), *Bacillus megaterium* (411, 412, 413, 511, 512, 521, 610, 622) и *Bacillus* sp. (522). Для изучения механизмов комплексной биологической активности разделенных бактериальных ассоциаций в опытах *in vitro* проанализировали ростстимулирующий эффект ассоциаций, цитокининпродуцирующую и антагонистическую активность отдельных штаммов.

Ростстимулирующий эффект ассоциаций оценивали по увеличению длины корней четырехсуточных растений фасоли. Было выявлено, что в плотности  $10^7$  кл./семя ассоциации Ф42, Ф51, Ф52 стимулировали рост корней на 18%, 22% и 45%, соответственно, в то время как обработка этими же ассоциациями в концентрации  $10^9$  кл./семя не привела к существенному увеличению длины корней растений, а ассоциация Ф42 ингибировала рост. Изученные антагонистические свойства штаммов против грибных фитопатогенов характеризовались невысокой активностью. На третьи сутки инкубации штаммов совместно с *Fusarium oxysporum* наибольшая зона подавления была отмечена у штамма 413 ( $62.8 \text{ мм}^2$ ), штаммы 412, 511 и 622 имели зоны подавления, равные  $35.3 \text{ мм}^2$  и  $522-25.1 \text{ мм}^2$ . На четвертые сутки наблюдался рост колоний без зоны подавления. Антагонизм к *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* 2630 отсутствовал. Отмечена способность бактерий синтезировать цитокининподобные вещества. Концентрация хлорофилла в отрезках листьев ячменя, инокулированных культуральной жидкостью штаммов микроорганизмов, была выше контроля во всех вариантах обработок, кроме штамма 420.

Таким образом, дальнейшее изучение микробно-растительной системы, позволит понять сложные отношения между партнерами по симбиозу и откроет перспективы их использования в практике экологически сбалансированного растениеводства.

## **НАСЛЕДОВАНИЕ ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ У КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ И ГИБРИДОВ F<sub>1</sub> ТОМАТА ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ СО ШТАММОМ *BURKHOLDERIA* SP. 418**

*Некрашевич Н.А., Бабак О.Г., Бажанов Д.П., Бажанова А.А., Кильчевский А.В.*

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск

E-mail: n\_nekrashevich@yahoo.com

Целью нашей работы явился анализ наследования биометрических признаков томата при взаимодействии с ассоциативной микрофлорой. По результатам предварительных лабораторных и полевых экспериментов для исследований был отобран штамм ризосферной бактерии *Burkholderia* sp. 418 и шесть коллекционных образцов томата с контрастной реакцией на бактеризацию по признакам «высота сеянцев» и «ранняя урожайность» для скрещивания по диаллельной схеме (6×6). Эксперимент по изучению влияния отобранного штамма на характер проявления признаков у 15 гибридов F<sub>1</sub> и 6 родительских форм включал 2 варианта: контроль (К) – выращивание образцов томата (диаллельной схемы) в теплице без обработки ризосферным штаммом и аналогичный вариант с обработкой образцов томата ризосферным штаммом (В.418). Для оценки эффективности растительно-микробного взаимодействия проводили учет линейных размеров растения и массы плодов и определяли отношения значений признаков (ОЗП) в варианте с бактеризацией к контролю (ОЗП В.418/К). Для определения характера наследования определяли степень доминирования признаков (Н<sub>р</sub>) по методу Дж.Л. Брюейкера.

Отмечены достоверные различия по ОЗП ряда биометрических признаков между изучаемыми формами. Характерной реакцией образцов томата на обработку штаммом *Burkholderia* sp. 418 было существенное увеличение ранней урожайности (у 5 исходных форм и 13 гибридов F<sub>1</sub>). Максимальное увеличение ранней урожайности (более чем в два раза) в варианте В.418 отмечено у гибридов Калинка × Ружа и Калинка × Линия 164, товарной и общей урожайности (до 92.4%) наблюдалось у гибридов, полученных при использовании Линии 164 в качестве опылителя.

Изменение характера наследования признака «высота сеянцев» в результате инокуляции семян штаммом *Burkholderia* sp. 418 проявлялось в смещении промежуточного характера наследования в контроле к положительному доминированию в среднем за два года. По данным 2009 г., в обоих вариантах опыта у гибридов F<sub>1</sub> основным характером проявления признаков урожайности было неполное доминирование. По массе плода при основном характере наследования признака неполное доминирование (80.0%) в варианте В.418 наблюдалось смещение наследования признака (величины Н<sub>р</sub>) на 13.3% в сторону отрицательного доминирования – уменьшения массы плода.

## **ВОЗМОЖНАЯ ПРИРОДА РАЗНОНАПРАВЛЕННОГО ДЕЙСТВИЯ НИТРАТА И АММОНИЯ НА САХАРОЗОСИНТАЗУ КОРНЕЙ И КЛУБЕНЬКОВ БОБОВЫХ**

*Никитин А.В., Измайлов С.Ф.*

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва

E-mail: [nitrogenexchange@mail.ru](mailto:nitrogenexchange@mail.ru)

Сахароза является главным продуктом фотосинтеза, экспортируемым в корни, где она обеспечивает энергией и С-субстратами процессы  $\text{NO}_3^-$  и  $\text{NH}_4^+$ -ассимиляции в корнях и фиксацию молекулярного азота в корневых клубеньках бобовых. Между данными двумя основополагающими физиологическими процессами усвоения азота в растительном организме устанавливаются сложные конкурентные взаимоотношения. В случае  $\text{NO}_3^-$  и  $\text{NH}_4^+$ -ассимиляции эти ионы *in vivo* оказывают положительный сигнальный эффект на главный фермент, расщепляющий сахарозу в корнях – сахарозосинтазу, а в случае  $\text{N}_2$ -фиксации в клубеньках – негативный. Природа такого разнонаправленного действия до сих пор не выяснена.

Нами изучена концентрационная зависимость действия  $\text{NH}_4^+$  и  $\text{NO}_3^-$ -ионов на сахарозосинтазу, выделенную из корней 6-дневных проростков гороха, росших на воде. Показано наличие экспоненциальной зависимости с активацией фермента в диапазоне концентраций нитрата до 2 мМ, аммония – до 10-12 мМ с последующим выходом активности на плато при более высоких концентрациях указанных ионов. Таким образом, в случае опытов *in vitro* была выявлена та же закономерность, что и *in vivo*, с констатацией точных значений молярности при активирующем и нейтральном действии этих ионов на фермент. В случае  $\text{NO}_3^-$  позитивный сигналинг *in vitro* имел место при реально наблюдаемых в цитозоле клеток корня концентрациях до 5 мМ, тогда как активирующий уровень  $\text{NH}_4^+$  значительно превосходил их.

В клубеньках большинства бобовых концентрация эндогенного аммония выше, чем в корнях, и составляет величину порядка 10-20 мМ. При действии  $\text{NH}_4^+$  в таких концентрациях наблюдается максимум активности сахарозосинтазы, и дополнительное поглощение экзогенного азота может приводить к ее ингибированию.

Кроме того, учитывая, что нитрат и аммоний вызывают дополнительный приток сахарозы в корни, может возникнуть дисбаланс С- и N-метаболизма в клубеньках. Это приведет к дополнительному стрессовому ингибированию сахарозосинтазы.

Полученные факты подчеркивают нецелесообразность внесения азотных удобрений на фоне наличия эффективных штаммов клубеньковых бактерий, равно как и применения микробиологических препаратов на фоне высокого N-статуса почвы.

## МЕЖПОПУЛЯЦИОННЫЕ ОТНОШЕНИЯ В МИКРОБИОЦЕНОЗАХ ВЕТЕРИНАРНОГО ГОСПИТАЛЯ

*Позднякова И.Г., Назарова Л.С.*

Саратовский государственный аграрный университет им Н.И. Вавилова, Саратов  
E-mail: [piona.82@mail.ru](mailto:piona.82@mail.ru)

Хорошо известно, что в многопрофильных больницах, хирургических отделениях, отделениях реанимации и ожоговых центрах постоянно циркулируют госпитальные штаммы бактерий различных видов, которые вызывают у длительно лечащихся больных нозокомиальные инфекции. В госпиталях для животных также имеется своя микрофлора в воздухе и на различных поверхностях.

Вместе с тем в доступной литературе мы не встречали сведений о межпопуляционных связях среди микроорганизмов различных видов, входящих в состав микробиоценозов лечебных учреждений. Это, на наш взгляд, является важным, поскольку нельзя исключить, что среди представителей больничной микрофлоры существуют не только симбиотические, но и антагонистические отношения.

С учетом вышеперечисленных моментов мы поставили своей целью изучить микробный профиль госпиталя для животных и определить наличие микробов-антагонистов среди выделенных штаммов.

Для достижения указанной цели нами проведены на первом этапе работы санитарно-микробиологические исследования воздуха и поверхностей клеток стационара, а на втором этапе изучен микробный антагонизм выделенных штаммов бацилл к микроорганизмам других видов *in vitro* по принципу диско-диффузионного метода.

В результате проведенной работы было установлено, что в ветеринарном госпитале циркулируют стафилококки различных видов, грамотрицательные кокки родов бранхамелла и ацинетобактер. В микробиоценозе имеется достаточно большой процент непатогенных бацилл. Последних в воздухе было 10%, в клетках – 30%. Мы предположили, что выделенные бациллы могут выступать в качестве продуцентов антибиотиков, как это установлено другими авторами. Наши предположения оказались верными. Некоторые штаммы бацилл подавляли рост ряда госпитальных, музейных штаммов и клинических изолятов, взятых для исследования (стафилококков, протей, синегнойной палочки).

Таким образом, можно заключить, что в госпитале для животных складываются определенные межпопуляционные отношения среди представителей госпитальных штаммов бактерий, где бациллы выступают в качестве антагонистов условно-патогенных микроорганизмов.

## **ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК ПРИ ДЕЙСТВИИ НА БАКТЕРИИ СОЕДИНЕНИЙ СЕРЕБРА (ИОНЫ, НАНОЧАСТИЦЫ), РАСТИТЕЛЬНЫХ ФЕНОЛОВ И НИТРОФУРАНОВ**

*Радзиг М.А., Зайцева Ю.В., Веселова М.А., Плюта В.А., Попова А.А.*

Институт молекулярной генетики РАН, Москва

E-mail: radzig@yandex.ru

Более 99% бактерий существуют в природных экосистемах в виде специфически организованных, прикрепленных к твердым поверхностям биопленок. Биопленки имеют характерную архитектуру, заключены в экзополимерный матрикс, содержащий наполненные жидкостью каналы, по которым осуществляется приток питательных веществ и кислорода и выведение конечных продуктов метаболизма бактериальных клеток. Способность бактерий существовать в составе биопленок представляет серьезную проблему для медицины, т.к. патогенные бактерии в биопленках значительно более устойчивы к действию антибактериальных препаратов. Изучение действия на образование биопленок бактерий различных химических соединений, включая лекарственные препараты, представляет большой интерес. Нами показано, что ионы и наночастицы серебра (НЧС) снижают способность бактерий формировать биопленки (на примере *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Serratia*). С использованием конфокальной микроскопии было установлено, что НЧС убивают бактерии в составе биопленок, однако этот эффект наблюдается при концентрациях НЧС в 10-20 раз более высоких, чем концентрации, необходимые для подавления образования биопленок.

Определено действие на образование биопленок *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 и *Agrobacterium tumefaciens* C58 фенольных веществ растительного происхождения. Фенолы широко распространены в растительном царстве, обнаружено их регулирующее действие на ряд физиологических и биохимических процессов в растениях, они важны для защиты растений от патогенных бактерий. Мы показали впервые, что испытанные нами фенольные кислоты, а также ванилин и эпикатехин в концентрациях, не подавляющих рост бактерий (около 50-500  $\mu\text{M}$ ), оказывали стимулирующее действие на формирование биопленок, увеличивая их образование в 2-3 раза. Эти данные открывают новую сторону взаимодействия бактерий с растениями. Стимуляция формирования биопленок является, по-видимому, полезной стратегией защиты бактерий от антибактериального действия растительных фенолов.

Было впервые показано, что производные нитрофуранов (фурацилин, фурагин, нитрофурантоин, нифуроксазид) и донор NO нитропруссид натрия в концентрациях, не подавляющих или слабо подавляющих рост бактерий, увеличивают в несколько раз образование биопленок у *P. aeruginosa* и *Burkholderia cenocepacia*. Подобная реакция бактерий на низкие концентрации лекарственных препаратов способствует выживанию патогенных бактерий после интенсивной антибактериальной терапии, когда в организме присутствуют остаточные концентрации этих веществ.

## ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ «ЧУВСТВА КВОРУМА» РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ТЕСТАХ ИНГИБИРОВАНИЯ БИОСИНТЕЗА ПИГМЕНТА ВИОЛАЦЕИНА

Толмачева А.А.

Оренбургский государственный университет, Оренбург

E-mail: [simfonia\\_2009@mail.ru](mailto:simfonia_2009@mail.ru)

Поиск регуляторов коллективного поведения бактерий в настоящее время стал одной из актуальных задач биохимии, микробиологии и фармакологии. При этом одним из перспективных направлений подобных исследований является скрининг продуктов растительного происхождения, в естественных условиях вовлеченных в процессы взаимодействия партнеров в симбиозах и ассоциациях.

Целью работы явилось изучение экстрактов 28 лекарственных растений на предмет их возможного влияния на кворум-зависимый синтез пигмента виолацеина, образуемого микроорганизмом *Chromobacterium violaceum* при автоиндукции С6-гомосеринлактоном. При этом объектами воздействия являлись дикий штамм *C. violaceum* ATCC 12472, а также производный от него мутант *C. violaceum* NCTC 13274, имеющий инсерцию в гене биосинтеза С6-гомосеринлактона и образующий виолацеин только при экзогенном внесении данного автоиндуктора в среду культивирования.

Проведение исследований в данном направлении позволило выявить у исследуемых экстрактов две группы эффектов, первый из которых заключался в прямом бактерицидном действии на сенсорные микроорганизмы. Наибольшей прямой антибактериальной активностью обладали вытяжки из листьев толокняника (*Uvae ursifolia*), листьев брусники (*Vitisidaeae folia*), побегов багульника (*Lieli palustris cornus*) и листьев эвкалипта (*Euca lyptiviminalis folia*).

Другим детектированным эффектом стало подавление образования виолацеина без изменения жизнеспособности сенсорных микроорганизмов. Наиболее сильными ингибиторами пигментообразования являлись экстракты листьев эвкалипта (*Euca Folia*), коры дуба (*Quercus Cortex*) и почек березы (*Betulae Gemmae*). Своеобразное действие было детектировано при тестировании настойки листьев череды, заключающееся в индукции образования пигмента виолацеина у *C. violaceum* NCTC 13274 в отсутствие С6-ГСЛ.

Сопоставление показателей подавления роста и пигментообразования использованных сенсорных штаммов свидетельствовало об отсутствии корреляции между данными параметрами ( $r = 0.02$ ,  $P > 0.05$ ), что свидетельствует в пользу независимости зарегистрированных бактерицидных и бактериорегуляторных эффектов.

## **ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И СВОЙСТВА ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ПОЧВЕННЫХ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ *PAENIBACILLUS POLYMUXA***

*Трегубова К.В., Егоренкова И.В., Игнатов В.В.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: kristina.t@list.ru

Хорошо известно, что бактерии *Paenibacillus polymyxa* активно синтезируют разнообразные экзополисахариды (ЭПС), обладающие рядом уникальных свойств, что объясняет разнообразие сфер возможного применения данных биополимеров. Наряду с этим, экзогликанам отводится важная роль в формировании растительно-микробных ассоциаций. Цель наших исследований состояла в изучении некоторых физико-химических и биологических свойств ЭПС ряда штаммов *P. polymyxa*.

В качестве объектов исследования были использованы штаммы *P. polymyxa*: 1465 (ATCC 8523), 1460 (ATCC 1041), 1459 (ATCC 842), 88А (ЦМПМ В-4556) и 92 (VNIISHM 92). Бактерии выращивали в периодической культуре при 30°C в течение 3 суток на жидкой питательной среде с 3% глюкозы или сахарозы. Культуральную жидкость (КЖ) разбавляли водой, центрифугировали, супернатант концентрировали в вакууме до первоначального объема, ЭПС осаждали трехкратным объемом ацетона и лиофильно высушивали с использованием устройства BENCHTOP 2K ES VirTis (США).

В ходе данной работы установлено, что ЭПС, продуцируемые бактериями *P. polymyxa* 1460, 1465, 92, являются гетерополисахаридами, при этом условия культивирования существенно влияли на соотношение фракций, реологические и антигенные свойства синтезируемых ЭПС. Экзогликаны протестированных штаммов содержали преимущественно Man, Glc, Gal в разных соотношениях, для бактерий *P. polymyxa* 1465 и 92 установлено наличие в ЭПС уоновых кислот и аминсахаридов, а в ЭПС<sub>1460</sub> идентифицированы также следовые количества Fuc и Xyl. Обнаружено, что штамм 1460 отличался доминированием низкомолекулярной нейтральной фракции как на среде с сахарозой, так и с глюкозой, и низкой (на уровне контроля) кинематической вязкостью растворов ЭПС.

Показано, что *P. polymyxa* способны в большом количестве прикрепляться к корням пшеницы, а их ЭПС вызывать с разной интенсивностью многочисленные морфологические изменения корневых волосков. На основании того, что штамм 1465, характеризующийся наибольшим выходом ЭПС, более высокими значениями вязкости КЖ и водных растворов ЭПС, оказался более активным в процессах колонизации корней проростков пшеницы, индукции деформации корневых волосков, а также при образовании биопленок, мы предполагаем, что ЭПС *P. polymyxa* вовлечены в процесс формирования растительно-микробных ассоциаций.

## ПОВЕРХНОСТНЫЕ БЕЛКИ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM*, УЧАСТВУЮЩИЕ В РЕАЛИЗАЦИИ КОЛЛЕКТИВНОЙ ПОДВИЖНОСТИ

*Широков А.А., Шелудько А.В., Кацы Е.И., Щеголев С.Ю., Матора Л.Ю.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: alexanders@ibppm.sgu.ru

Ризобактерии рода *Azospirillum*, оказывающие рост-стимулирующее влияние на сельскохозяйственные культуры, при колонизации корней растений могут формировать микроколонии [1]. В настоящей работе исследована зависимость этого явления от способности азоспирилл образовывать микроколонии при коллективной миграции в полужидких средах ( $\text{Gr}^+$  фенотип) [2] и установлены поверхностные структуры, обеспечивающие реализацию такого типа бактериальной подвижности. Для оценки роли поверхностных белков бактерий рода *Azospirillum* в реализации коллективной подвижности данных бактерий развиты иммунохимические приемы с использованием родоспецифичных антител (Ат) на пул белковых поверхностных антигенов.

Впервые выявлены белковые антигенные маркеры бактерий *Azospirillum brasilense*, коллективно мигрирующих с образованием микроколоний. Установлено, что только один из родоспецифичных белковых антигенов азоспирилл идентичен таковому  $\text{Gr}^+$ -мутантов, распространяющихся с образованием микроколоний. Иммунохимическими методами продемонстрировано увеличение уровня экспрессии белковых детерминант при проявлении у бактерий  $\text{Gr}^+$  фенотипа в полужидких средах, содержащих витальный краситель конго красный [3]. Установлено, что в процессе взаимодействия с корневыми волосками у азоспирилл происходит усиление синтеза предсуществующих белковых поверхностных структур – возможно, пилей, обеспечивающих  $\text{Gr}^+$  подвижность.

На основании полученных в работе экспериментальных данных сформулировано предположение о том, что механизм распространения азоспирилл с образованием микроколоний реализуется в ризосфере при заселении азоспириллами растущих корневых волосков.

1. Burdman S., Okon Y., Jurkevitch E. Surface Characteristics of *Azospirillum brasilense* in relation to cell aggregation and attachment to plant roots // Crit. Rev. Microbiol. – 2000. – Vol. 26, № 2. – P. 91-110.

2. Шелудько А.В., Кацы Е.И. Образование на клетке *Azospirillum brasilense* полярного пучка пилей и поведение бактерий в полужидком агаре // Микробиология. – 2001. – Т. 70, № 5. – С. 662-667.

3. Шелудько А.В., Борисов И.В., Крестиненко В.А., Панасенко В.И., Кацы Е.И. Влияние конго красного на подвижность бактерий *Azospirillum brasilense* // Микробиология. – 2006. – Т. 75, № 1. – С. 62-69.



# СЕКЦИЯ 4

**РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫЕ СИМБИОЗЫ:  
МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ  
ИНТЕГРАЦИЯ ОРГАНИЗМОВ**

## СТРУКТУРА И ИММУНОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЛИКОЗИЛИРОВАННОГО ФЛАГЕЛЛИНА ПОЛЯРНОГО ЖГУТИКА БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*

*Беляков А.Е., Селиванов Н.Ю., Бурьгин Г.Л., Матора Л.Ю., Щеголев С.Ю.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: gena@ibppm.sgu.ru

Основными макромолекулами поверхности бактерий, определяющими их способность взаимодействовать с другими клетками, являются флагеллин жгутиков, мажорные белки наружной мембраны, капсульные полисахариды и липополисахариды (ЛПС). Бактериальный жгутик представляет собой ключевой компонент клеточной подвижности и хемотаксиса прокариот и участвует в адсорбции ассоциативных бактерий на корнях растения. При этом за антигенные и адгезивные свойства жгутика отвечает его филамент, состоящий из тысяч идентичных молекул белка флагеллина.

Целью данной работы было изучение особенностей строения и антигенных свойств флагеллина полярного жгутика ассоциативных бактерий *Azospirillum brasilense*.

В результате проведенного исследования оптимизирована процедура получения хроматографически и электрофоретически чистых препаратов флагеллина полярного жгутика типового штамма *A. brasilense* Sp7. Показана неспособность к самосборке филамента при нейтральной реакции среды в присутствии ионов кальция и магния, а также термостабильность флагеллина Sp7. Сформулировано предположение о влиянии углеводных фрагментов на свойства флагеллина полярного жгутика азоспирилл.

Калориметрическим методом и по распределению между фазами в системе фенол/вода определена массовая доля углеводов в молекуле флагеллина, составляющая 0.25-0.3. Эти данные подтверждены при изучении состава углеводных фрагментов.

Совместно с сотрудниками лаборатории химии углеводов ИОХ РАН выделены и исследованы углеводные фрагменты гликозилированного флагеллина полярного жгутика *A. brasilense* Sp7, определен их моносахаридный состав. Обнаружена иммунохимическая идентичность углеводных фрагментов гликозилированного флагеллина одному из двух О-специфических полисахаридов соматического антигена данного штамма. Методом иммуноферментного анализа установлено, что антигенные детерминанты ЛПС и углеводных фрагментов флагеллина полярного жгутика *A. brasilense* Sp7 антигенно близки и проявляют групповую серологическую специфичность. В то же время антитела на флагеллин штамма Sp7 взаимодействуют с препаратами флагеллина серологически различных штаммов азоспирилл, что свидетельствует о высокой консервативности белковых антигенных детерминант Н-антигена данных бактерий.

## АССОЦИАТИВНЫЙ СИМБИОЗ ДИАЗОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ И РАСТЕНИЙ ОГУРЦА КАК СПОСОБ АДАПТАЦИИ К ДЕЙСТВИЮ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Блинков Е.А.

Российский государственный аграрный университет – МСХА

им. К.А. Тимирязева, Москва

E-mail: agent-j88@mail.ru

Многие микроорганизмы способны адаптироваться к стрессовым условиям среды и сохранять свою жизнеспособность. Их можно использовать для защиты растений от негативных факторов внешней среды. Открытие явления ассоциативной азотфиксации обосновало целесообразность искусственного обогащения ризосферы небобовых растений отобранными штаммами бактерий, способных к комплексному положительному воздействию на растения, в том числе к активному связыванию молекулярного азота. Последнее особенно важно для овощных культур, нуждающихся в больших дозах азота в доступной форме. При этом бактерии способствуют лучшему росту и развитию растений благодаря синтезу ростостимулирующих и антибиотических веществ, а также выступают в роли протекторов стресса. В свою очередь растения создают для бактерий более благоприятный биотоп.

В модельном и вегетационном опытах нами исследовалось влияние инокуляции растений штаммами ассоциативных бактерий и пониженных температур при оптимальном и дефицитном для развития огурца водных режимах на ассоциативный симбиоз *Cucumis sativus* L. и diaзотрофов.

Показано, что ассоциативные бактерии способны быстро колонизировать ризоплану растений и находить на корнях определенную экологическую нишу. Поэтому они менее подвержены воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды. При инокуляции растений штаммом *Klebsiella planticola* ТСХА-91, благодаря его способности к инвазии в ткани *Cucumis sativus* L., а также выделению растениями огурца некоторых веществ, наблюдалась более высокая численность diaзотрофов в ризоплане и ризосфере при пониженных температурах (+12-16°C) по сравнению с вариантом без инокуляции. При дефицитном увлажнении (45-50% от полной влагоемкости) и температурном стрессе отмечена высокая выживаемость *Arthrobacter mysorens* 7 по сравнению с другими исследованными в работе штаммами ассоциативных ризобактерий. Это можно объяснить тем, что данный штамм был выделен из почв сухих степей, поэтому он более устойчив к действию стрессовых факторов.

Установлено, что интродуцируемые в ризосферу бактерии *Klebsiella planticola*, *Agrobacterium radiobacter* и *Arthrobacter mysorens* вступают в ассоциативный симбиоз с растениями огурца и способны снижать негативное воздействие стрессовых факторов на эти растения, особенно на ранних стадиях их развития. Это явление можно объяснить тем, что микроорганизмы синтезируют и поставляют растениям различные ростовые вещества и другие органические соединения, повышающие иммунитет растений.

## **СРАВНЕНИЕ СВОЙСТВ ШТАММОВ *ENTEROBACTER SP. Ч16* И ТРАНСФОРМИРОВАННОГО PRL GFP *ENTEROBACTER SP. Ч16-GFP* ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ *PISUM SATIVUM L.* В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ**

Гарифуллина Д.В.

ФГОУ ВПО Башкирский государственный аграрный университет, Уфа  
E-mail: ShavaleevaDV@mail.ru

Экологически чистым приемом повышения продуктивности и устойчивости растений является инокуляция бобовых культур ассоциациями различных видов бактерий. При отборе высокоэффективных комбинаций штаммов с хозяйственно-полезными свойствами необходимо выяснение характера биотических отношений между бактериями и изучение колонизации данными штаммами тканей растения. С этой целью перспективный штамм *Enterobacter sp. Ч16* был трансформирован pRL gfp. Для выяснения степени влияния генетической трансформации на полезные качества штамма нами был заложен полевой эксперимент с автономной инокуляцией штаммов *Enterobacter sp. Ч16* и *Enterobacter sp. Ч16-gfp*. Мелкоделяночный опыт заложен в 2009 г. на черноземе выщелоченном с содержанием гумуса 8%, лимитирующим фактором вегетационного периода являлся существенный недостаток влаги.

В результате выяснилось, что автономная обработка штаммом *Enterobacter sp. Ч16-gfp* увеличила массу семян на 15%, по сравнению с *Enterobacter sp. Ч16*, однако эти различия недостоверно отличались от уровня контроля. Трансформированный штамм также способствовал увеличению массы растений в фазу вегетации на 54% по сравнению с контролем. На образование симбиоза между растением и клубеньковыми бактериями обе обработки оказали стимулирующее действие. Клубенькообразование при обработке штаммом *Enterobacter sp. Ч16* увеличилось на 33%, а в варианте инокуляции штаммом *Enterobacter sp. Ч16-gfp* – на 24%. Степень пораженности растений корневыми гнилями в варианте обработки штаммом *Enterobacter sp. Ч16* снизилась на 50% по сравнению с контролем, как и в предыдущие полевые сезоны. В варианте с инокуляцией *Enterobacter sp. Ч16-gfp* степень поражения растений корневыми гнилями была ниже контроля на 16%.

Итак, можно сказать, что после генетической трансформации не произошло отрицательных изменений в хозяйственно-полезных свойствах штамма. Следовательно, биотические отношения микроорганизм-растения не нарушены, что важно для выяснения способов колонизации растения исследуемым штаммом, трансформированным pRL gfp.

## МОДЕЛИРОВАНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ ПОР ИЗ БЕЛКА VirE2 В МЕМБРАНЕ

*Гусев Ю.С.<sup>1</sup>, Чумаков М.И.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

<sup>2</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: [chumakov@ibppm.sgu.ru](mailto:chumakov@ibppm.sgu.ru)

Бактерии рода *Agrobacterium tumefaciens* инфицируют клетки растения путем переноса и встройки T-ДНК в геном растения. Ключевым фактором в этом процессе – агробактериальный белок VirE2, который связывается с транспортируемой ДНК и образует T-комплекс. Целью работы являлось компьютерное исследование возможной роли белка вирулентности VirE2 в переносе T-ДНК через липидную мембрану. С целью установления общего механизма переноса коротких олигонуклеотидов проведен поиск гомологии бакуловирусов и белка VirE2 с помощью программы Blast. Установлено, что белки семейства бакуловирусов и белок VirE2 не имеют сходства. Проведен поиск каналов в комплексе белков VirE2-VirE1 с помощью программы Mole-Online (<http://mole.chemi.muni.cz/web>), где найдены 3 канала с диаметрами 0.2 нм, 0.3 нм, 0.8 нм. Проведено компьютерное исследование способности белка VirE2 взаимодействовать с бислойной липидной мембраной. С помощью программ GRAMMX (<http://vakser.bioinformatic.ku.edu/resources/gramm/grammx>) и CHARMM GUI (<http://www.charmm-gui.org>) построены модельные структуры, состоящие из 2-6 белков VirE2 и из 1, 2, 4 комплексов белков VirE2 в мембране. Впервые показано, что в модельной структуре, состоящей из двух и четырех молекул VirE2, расположенной в бислойной мембране возможно образование пор с диаметром канала 2 и 3.8 нм, соответственно. При этом в канале из двух белков экспонированы концы подвижной междоменной петли, что суживает просвет канала до 0.7 нм. Построена динамичная 3-D модель переноса комплекса T-ДНК-VirE2-белок через липидную мембрану со встроенной VirE2 порой, состоящей из 4 белков.

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ КАРТИРОВАНИЕ СИМБИОТИЧЕСКИХ ГЕНОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕН-СПЕЦИФИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ

*Жуков В.А., Неманкин Т.А., Овчинникова Е.С., Жернаков А.И., Титов В.С., Гришина О.А., Сулима А.С., Рычагова Т.С., Кузнецова Е.В., Борисов А.Ю., Тихонович И.А.*

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Пушкин  
E-mail: zhukoff01@yahoo.com

Неотъемлемой частью изучения генетической интеграции растений и почвенных микроорганизмов является клонирование ключевых генов, осуществляемое обычно на основании генетического картирования. Основным инструментом, используемым в настоящее время для генетического картирования, являются молекулярные ДНК-маркеры, создаваемые на основе последовательностей генов.

Горох посевной является одной из важнейших сельскохозяйственных культур мира после сои и фасоли (согласно данным FAOSTAT <http://faostat.fao.org>). На горохе получено более 100 мутантов с нарушениями развития симбиозов с грибами арбускулярной микоризы и клубеньковыми бактериями, и изучение генов, несущих мутации, должно способствовать выявлению детальных механизмов контроля развития симбиотических систем.

В данной работе используются молекулярные маркеры, создаваемые на основе последовательностей генов люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.). К настоящему моменту создано более 40 маркеров, покрывающих большую часть генома гороха посевного, и путем анализа физической карты генома люцерны слабоусеченной были определены позиции гомологичных им генов *M. truncatula*. Начат анализ наследования этих маркеров для выяснения локализации в геноме гороха симбиотических генов *Sym36*, *Sym40* и *Sym42*, ответственных за развитие арбускулярной микоризы (*Sym36*) и азотфиксирующих клубеньков (все перечисленные гены). В результате работы ген *Sym42* был локализован в V группе сцепления гороха. Начата работа по локализации генов *Sym40* и *Sym36*, однако их положение в геноме гороха пока не определено.

Картирование генов гороха с использованием ген-специфичных молекулярных маркеров открывает перспективы их клонирования с использованием достижений генетики и геномики модельного бобового растения *Medicago truncatula*.

Работа поддержана грантами РФФИ (09-04-00907, 09-04-13895, 09-04-91054, 09-04-91293, 10-04-00961, 10-04-01146), NWO 047.018.001, грантом Президента России (НШ-3440.2010.4), Госконтрактами Минобрнауки (02.512.11.2280, 02.740.11.0276).

## КАЛЛУСНАЯ КУЛЬТУРА СМОЛЕВКИ ОБЫКНОВЕННОЙ КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РАСТЕНИЙ И ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

*Капустина О.М., Гюнтер Е.А.*

Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар

E-mail: Kapustinao@mail.ru

Клеточные стенки каллусной культуры и интактного растения состоят из полисахаридов, сходных по структуре. Основными углеводными компонентами матрикса являются гемицеллюлозы и пектиновые вещества, которые придают клеточной стенке дополнительную прочность. Однако, при неблагоприятных условиях окружающей среды, они могут быть легко разрушены фитопатогенными грибами. Цель данной работы – изучение действия фитопатогенных грибов *Aspergillus niger* и *Fusarium* sp. на пектин силенана каллуса смолевки (*Silene vulgaris* (M.) G.).

Заражение каллуса проводили на 18-е сутки и сокультивировали с мицелием в течение 3-х суток до соприкосновения мицелия с каллусом. Контролем служил каллус, который культивировали без грибов, и мицелий, выращенный отдельно от каллуса.

Основными компонентами силенана являются остатки D-галактуроновой кислоты, галактозы, арабинозы и рамнозы. После сокультивирования с грибами *A. niger* и *Fusarium* sp. содержание остатков галактуроновой кислоты в силенане уменьшается в 1.3 раза и 1.2 раза, соответственно.

Показано, что активность полигалактуроназы (ПГ) в каллусе снижается в 1.3 раза после инфицирования спорами гриба *A. niger* и возрастает в 13 раз при сокультивировании каллуса и мицелия *Fusarium* sp. В питательной среде после инфицирования каллуса спорами *A. niger* отмечено увеличение активности фермента в 3.5 раза по сравнению со средой, на которой выращивали только гриб, и ее уменьшение в 1.6 раза по сравнению со средой, где культивировали только каллус. Отмечено увеличение данной активности в питательной среде при совместном выращивании каллуса и мицелия *Fusarium* sp. в 5.6 раза по сравнению со средой, на которой культивировали только каллус. В мицелии гриба *A. niger* активность данного фермента увеличивается в 3.6 раза при сокультивировании с каллусом. Совместное выращивание каллуса и мицелия гриба *Fusarium* sp. не влияет на активность полигалактуроназы в мицелии.

Таким образом, механизм действия фитопатогенных грибов на растительную клетку различается, что связано с увеличением активности ПГ клеток растения или гриба. Увеличение синтеза внутриклеточной полигалактуроназы клетками каллуса при сокультивировании с *Fusarium* sp., вероятно, связано с необходимостью разрушения пектина растительной клеточной стенки до олигосахаридов, которые запускают процессы защиты растения от патогенов, направленные на подавление роста гриба. Гриб *A. niger* использует этот фермент для проникновения в клетки растения.

*Работа поддержана грантом УрО РАН для молодых ученых.*

## **Mn-ПЕРОКСИДАЗА *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*: ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА**

*Купряшина М.А., Селиванов Н.Ю., Никитина В.Е.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: kupryashina\_m@mail.ru

Известно, что вещества вторичного происхождения играют важную роль во взаимоотношении растения с окружающей средой. В частности, защитные реакции растительных тканей на атаку патогенных организмов напрямую связаны с участием фенольных соединений. В последнее время высказываются предположения, что бактерии рода *Azospirillum*, относящиеся к азотфиксирующим почвенным микроорганизмам, способны разрушать токсичные фенольные соединения благодаря наличию фенолоксиляющих ферментов. Изучение фенолоксидаз азоспирилл может выявить новые аспекты взаимоотношений ассоциативных микроорганизмов с растениями. Одним из ключевых ферментов фенолоксидазного комплекса является Mn-пероксидаза (MnП), однако сведения о наличии MnП у бактерий отсутствуют. В связи с вышеизложенным, целью данной работы явилось выделение и очистка MnП *Azospirillum brasilense* Sp245.

Культивирование штамма осуществляли на жидкой минеральной среде, в качестве индуктора при пассаже использовали 0.1 мМ пирокатехин. Двухсуточную культуру бактерий осаждали центрифугированием 20 мин при 4°C. Супернатант обессоливали на колонке с носителем Sephadex G25 против 0.025 М Na-ацетатного буфера (буфер А), pH = 5.0. Обессоленный препарат (общий объем 10 мл) наносили на колонку TSK Bioassist Q, уравновешенную стартовым буфером А. Связавшиеся с носителем белки элюировали в ступенчатом градиенте от 0 до 1 М NaCl. Белки, обладающие MnП-активностью, выходили в градиенте NaCl от 0.8 до 1 М. Фракции, обладающие MnП-активностью, использовали для дальнейшего анализа. Активность MnП определяли спектрофотометрически по скорости окисления 2,6-диметоксифенола ( $\epsilon = 30.5 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) при 30°C. За 1 условную единицу (усл. ед.) активности фермента принимали изменение поглощения при 468 нм на 1 единицу за 1 минуту. Удельную активность выражали в усл. ед. на 1 мг белка. О содержании белка судили по количественной реакции с реактивом Бредфорд. Удельная активность фермента в культуральной жидкости составляла 0.48 ед./мг, а после стадии очистки – 12.5 ед./мг.

По данным нативного и SDS-электрофорезов, полученный ферментный препарат представлял собой гомогенную MnП, молекулярной массой примерно 43 кДа.

Таким образом, впервые выделена MnП *A. brasilense* Sp245 со средней степенью очистки (26 единиц).

## ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ, НЕСУЩИХ ГЕН РИБОНУКЛЕАЗЫ *ZINNIA ELEGANS*

*Мамонтова Е.М.*<sup>1</sup>, *Великов В.А.*<sup>1,2</sup>, *Волохина И.В.*<sup>1</sup>, *Чумаков М.И.*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

<sup>2</sup> Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов  
E-mail: mamontovaem@mail.ru

Целью работы является определение эффективности встройки Т-ДНК, несущей ген рибонуклеазы *Zinnia elegans*, в геном кукурузы после трансформации *in planta*. Трансформацию осуществляли, как описано в работе [1]. Для трансформации кукурузы линий АТ-3, ЗМС (Зародышевый маркер саратовский), ЗМСП (Зародышевый маркер саратовский пурпурный), КМС (коричневый маркер саратовский) использовали штамм *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404 с бинарным вектором pBiRNS, содержащим маркерный ген *nptII* и белок-кодирующую часть гена рибонуклеазы. Встройку Т-ДНК в геном канамицин-устойчивых проростков выявляли методом ПЦР на ген рибонуклеазы. ПЦР-анализ тотальной ДНК, выделенной из листьев двухнедельных проростков кукурузы, показал, что процент трансформантов у разных линий кукурузы составил 0.4 и 1.9%. При этом эффективность трансформации линии ЗМС (опылитель КМС), проведенной при температуре 18-21°C, была в 4 раз выше, чем после обработки при 27-28°C. Для проверки на агробактериальное загрязнение препарат тотальной ДНК кукурузы проверяли на специфические для *A. tumefaciens* гены *virC1* и *virC2*. Ни в одном из образцов соответствующий ПЦР-продукт не был зарегистрирован.

1. Мамонтова Е.М., Великов В.А., Волохина И.В., Чумаков М.И. Трансформация *in planta* растений кукурузы // Генетика. – 2010. – Т. 46, № 4. – С. 568-571.

## **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ *ACHOLEPLASMA LAIDLAWII* PG8 И *ORYZA SATIVA* L.: ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКОВ РАСТЕНИЙ В ОТВЕТ НА ВФ И УМФ МИКОПЛАЗМЫ**

*Медведева Е.С., Давыдова М.Н., Нестерова Т.Н., Пономарева А.А.,  
Чернова О.А., Чернов В.М.*

Учреждение Российской академии наук Казанский институт биохимии и  
биофизики КазНЦ РАН, Казань  
E-mail: elena-med@list.ru

*Acholeplasma laidlawii* – «вездесущая» микоплазма, обнаруживаемая в почве, сточных водах, тканях эукариот, является основным контаминантом клеточных культур и возбудителем фитомикоплазмозов. Контроль фитомикоплазмозов представляет серьезную проблему, решение которой связывают с выяснением молекулярных основ взаимодействия микоплазмы и растений. В природных условиях встречаются вегетативные (активно пролиферирующие) формы (ВФ) *A. laidlawii* PG8 и ультрамикрoформы (УМФ) – кокковидные карликовые клетки (диаметр ~0.2 мкм), проявляющие слабую пролиферативную активность. Роль тех и других форм микоплазмы в фитопатогенезе пока не ясна. В наших предыдущих исследованиях было показано, что ВФ и УМФ имеют существенные различия по морфологии, ультраструктуре и экспрессии белков, которые могут обуславливать различие их вирулентности.

Цель данной работы – сравнительный анализ морфологии, ультраструктуры и экспрессии белков растений (*Oryza sativa* L.) при взаимодействии с ВФ и УМФ *A. laidlawii* PG8.

В результате наших исследований было установлено, что ВФ и УМФ *A. laidlawii* PG8 проявляют фитопатогенность в отношении *Or. sativa* L. ВФ способны проникать через корневую систему *Or. sativa* L. и вызывать деструктивные процессы в тканях растений. УМФ не проникают в ткани *Or. sativa* L., но индуцируют изменение ультраструктуры тканей растений. Ответные реакции *Or. sativa* L. на ВФ и УМФ, связанные с модуляцией экспрессии белков, различаются. Из 44 идентифицированных белков *Or. sativa* L., дифференциально экспрессированных в ответ на заражение *A. laidlawii* PG8, 13 являются общими, а 19 и 12 – специфичными стресс-реактивными белками в отношении ВФ и УМФ микоплазмы. Для ряда стресс-реактивных белков *Or. sativa* L. показано участие в трансляции, фотосинтезе, клеточном метаболизме и защитных реакциях растений. Однако функции значительной (25) части идентифицированных белков не известны. 40 белков *Or. sativa* L., дифференциально экспрессированных в ответ на заражение *A. laidlawii* PG8, впервые были выявлены в качестве реактивных в отношении бактерий. Дифференциальность ответных реакций *Or. sativa* L. на ВФ и УМФ коррелирует с особенностями протеомов соответствующих клеток *A. laidlawii* PG8 и профилей секретирующихся факторов вирулентности микоплазмы.

## ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В КОРНЯХ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЛЕКТИНОВ АЗОСПИРИЛЛ

*Наконечная О.И., Аленькина С.А., Ларионова В.А., Никитина В.Е.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: alenkina@ibppm.sgu.ru

Синтез перекиси водорода – один из наиболее быстрых ответов растительной клетки на индуцирующие воздействия. Считается, что основным источником перекиси водорода в клетках растений является дисмутация молекулы кислорода, катализируемая супероксиддисмутазой. Однако в последнее время большой интерес вызывают альтернативные пути образования перекиси водорода с помощью пероксидазы и оксалатоксидазы. Для корней проростков пшеницы одним из биогенных факторов являются находящиеся в прикорневой зоне азотфиксирующие ассоциативные бактерии рода *Azospirillum*, стимулирующие рост и развитие растений. Ранее с поверхности двух штаммов азоспирилл – *A. brasilense* Sp7 и мутанта этого штамма *A. brasilense* Sp7.2.3. – были выделены лектины – гликопротеины с молекулярной массой 36 кДа и специфичностью к L-фукозе (1.87 мМ) и к D-галактозе (20 мМ). Лектин мутантного штамма имел измененные антигенные свойства и обладал иной функциональной активностью [1]. Установлено, что лектины в числе других факторов участвуют в инициации взаимодействия бактерий с корнями [2]. Данные же о роли лектинов в изменении содержания стрессовых метаболитов в растительной клетке полностью отсутствуют.

В результате проведенных исследований было показано, что лектины обоих штаммов во всех изучаемых концентрациях (оценивали три концентрации – 10, 20 и 40 мкг/мл) вызывали увеличение активности пероксидазы, но только в том случае, когда время выдерживания корней с лектинами составляло 20 мин. (изучались временные интервалы 10 и 20 мин). Самой эффективной для обоих лектинов явилась концентрация 40 мкг/мл. Лектин родительского штамма вызывал увеличение пероксидазной активности в большей степени, чем лектин мутантного штамма. 10-минутная обработка корней проростков растений препаратами лектинов вызывала активацию оксалатоксидазы. Лектины родительского и мутантного штаммов проявляли различия. Если лектин родительского штамма при указанной экспозиции вызывал эффект при концентрации 10 мкг/мл, лектин же мутантного штамма – при 20 мкг/мл. Так, активность для родительского и мутантного штаммов составила через 8 мин. после инициации реакции  $11.2 \pm 1.3$  и  $7.2 \pm 0.5$  ед. на 1 г сырой массы, соответственно; в контрольных проростках, т.е. не инкубированных с лектинами, она была  $6.0 \pm 0.2$  ед. Полученные данные свидетельствуют о том, что лектины азоспирилл, изменяя метаболизм растительной клетки, способны влиять на адаптационные возможности растения.

1. Аленькина С.А. с соавт. // Микробиология. – 1998. – Т. 67, № 6. – С. 782-787.
2. Никитина В.Е. с соавт. // Микробиология – 1996. – Т. 65, № 2. – С. 165-170.

## МИКРОБОЦЕНОЗЫ ПРИКОРНЕВОЙ ЗОНЫ *DACTYLORHIZA MACULATA* L. (SOO) (ORCHIDACEAE)

Первушина К.А.<sup>1</sup>, Холмогоров С.В.<sup>1</sup>, Шеховцова Н.В.<sup>1</sup>, Маракаев О.А.<sup>1</sup>,  
Осинов Г.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль

<sup>2</sup>Научный центр сердечно-сосудистой хирургии РАМН им. А.Н. Бакулева,  
Москва

E-mail: botany306@mail.ru

Исследовали таксономический состав микробоценозов прикорневой зоны пальчатокоренника пятнистого (*Dactylorhiza maculata*) в связи с особенностями биологии этого охраняемого вида орхидных. Объектами были пробы почвы из ризопланы и ризосферы, придаточные корни и окончания стеблекорневых тубероидов. Реконструкцию таксономической структуры микробоценозов осуществляли с помощью анализа биомаркеров в липидных профилях почвенных проб, полученных методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии. Сравнение выявленных биомаркеров с имеющимися в базах данных позволило установить достаточно разнообразные микробоценозы в ризоплане и ризосфере *D. maculata* – 5 таксонов грибов и 37 таксонов бактерий разного ранга общей численностью  $10^7$  и  $10^8$  усл. кл./г, соответственно. Среди грибов во всех частях прикорневой зоны *D. maculata* более 95% занимают микромицеты рр. *Gigaspora*, *Glomus* и *Scutellospora*, участвующие в образовании арбускулярной микоризы. Из выявленных бактерий 18 таксонов являются грамположительными и 19 – грамотрицательными. Однако по массовой доле грамположительные микроорганизмы превышают грамотрицательные почти в 2 раза. Актиномицеты доминируют в ризоплане, зонах придаточных корней и окончаний стеблекорневых тубероидов – 44, 39 и 30%, соответственно. Из них основная часть представлена рр. *Nocardia* и *Rhodococcus*, а также коринеформными и микобактериями. Неспорообразующие бродильщики во всех микробоценозах составляют 11-12%. Среди грамотрицательных видов преобладают представители псевдомонад (копиотрофы, г-стратеги), почкующиеся, стебельковые и метилотрофные бактерии (олиготрофы, К-стратеги). При удалении от поверхности подземных органов *D. maculata* количество бактерий рр. *Hyphomicrobium* и *Caulobacter* уменьшается, а коринеформных и микобактерий увеличивается в 2 раза. При этом доля *Agrobacterium radiobacter* возрастает в 6 раз. Последний вид относят к активным колонизаторам корней растений, азотфиксаторам и продуцентам фитогормонов [1]. Таким образом, впервые с помощью маркерного анализа установлены особенности таксономической структуры микробоценозов, ассоциированных с разными подземными органами *D. maculata* – представителя орхидных умеренной зоны России.

Работа выполнена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», госконтракт № П271.

1. Игнатов В.В. – М.: Наука, 2005. – 262 с.

## ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ЛИПИДОВ А ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ ПРОИЗВОДНЫХ ШТАММОВ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SP245 И SP7

*Сигида Е.Н., Федоненко Ю.П., Коннова С.А., Игнатов В.В.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: room308@ibppm.sgu.ru

Липополисахариды (ЛПС) играют важную роль во взаимоотношениях бактериальных клеток с окружающей средой. Гидрофобный участок молекулы – липид А – имеет большое значение для целостности мембраны грамотрицательных бактерий и проявления биологических свойств ЛПС. Известно, что липид А является наиболее консервативной частью макромолекулы ЛПС.

Объектом нашего исследования были выбраны два производных штаммов *Azospirillum brasilense* Sp245 и Sp7 – *A. brasilense* Sp245.5 и Sp7.K2 с измененным плазмидным составом, у которых, по данным электрофоретического анализа, преобладали R-формы ЛПС.

Методом ГЖХ в составе ЛПС исследуемых штаммов в виде метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) были идентифицированы предельные, непредельные и гидроксикислоты с длиной углеводородной цепи от C<sub>11</sub> до C<sub>24</sub>. Следует отметить преобладание в обоих препаратах ЛПС 3-гидрокситетрадекановой (3-ОН-C<sub>14:0</sub>), цис-9,12-октадекановой (9,12-cis-C<sub>18:2</sub>), транс-9,12-октадекановой (9,12-trans-C<sub>18:2</sub>), октадекановой (C<sub>18:0</sub>), нонадекановой (C<sub>19:0</sub>) и цис-11-эйкозановой (11-cis-C<sub>20:1</sub>) кислот (65.7 и 67.7% от общего количества жирных кислот (ЖК) для ЛПС<sub>245.5</sub> и ЛПС<sub>7.K2</sub>, соответственно). В то же время содержание предельных и непредельных ЖК было примерно одинаково, однако в ЛПС<sub>245.5</sub> преобладали предельные (46.2%), а в ЛПС<sub>7.K2</sub> – непредельные ЖК (50.1%). Характерной особенностью ЛПС изучаемых штаммов являлось низкое содержание гидроксикислот, на их долю приходилось всего 17.2% для ЛПС<sub>245.5</sub> и 12.6% для ЛПС<sub>7.K2</sub>, тогда как, по литературным данным, в ЛПС других штаммов азоспирилл их содержание составляло 50-75%.

Мягким щелочным гидролизом 12.5%-ным гидроксидом аммония были получены О-деацилированные производные ЛПС. В спектре ГЖХ МЭЖК О-деацилированного ЛПС<sub>245.5</sub> отсутствовали сигналы всех упомянутых выше ЖК кроме 3-ОН-C<sub>14:0</sub>, что подтвердило ее присоединение к глюкозаминбиозе посредством амидной связи. В спектре О-деацилированного ЛПС<sub>7.K2</sub> присутствовали все характерные сигналы исходного ЛПС, однако, в ином процентном соотношении. Содержание 9,12-trans-C<sub>18:2</sub>, C<sub>18:0</sub> и 11-cis-C<sub>20:1</sub> ЖК уменьшилось вдвое, что позволяет предположить наличие сложноэфирной связи для остатков этих ЖК.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 08-04-00669).*

## **ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЛЕКТИНА РАСТЕНИЯ-ХОЗЯИНА НА РОСТ, МЕТАБОЛИЗМ И СИМБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ СОИ**

*Сытников Д.М.<sup>1</sup>, Кругова Е.Д.<sup>2</sup>, Мандровская Н.М.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев

<sup>2</sup>Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев

E-mail: sytnikov@list.ru

В растительно-микробных ассоциациях и бобово-ризобиальном симбиозе лектины растения-хозяина играют роль молекулярных сигналов межорганизменного взаимодействия. Фитолектины рассматривают в качестве одного из важных факторов, контролирующих формирование и определяющих эффективность бобово-ризобиального симбиоза. В последние годы активно обсуждается участие антиоксидантных ферментов в передаче сигналов и регуляторных процессах, обеспечивающих формирование ответа клетки на действие биотических и абиотических факторов. Вопрос об индуцируемых лектином изменениях в метаболизме микросимбионта, которые, должно быть, и определяют особенности симбиотического взаимодействия с растением-хозяином, остается не выясненным.

Цель настоящей работы заключалась в изучении влияния лектина сои (SBA) на рост, активность антиоксидантных ферментов и биосинтез белков клубеньковых бактерий сои (*Bradyrhizobium japonicum*) различной активности в чистой культуре, а также проявление их симбиотических свойств при функционировании симбиоза.

Полученные нами результаты свидетельствуют о стимулирующем влиянии лектина сои на рост различных штаммов клубеньковых бактерий (634б, 64б, 21110 и 604к) в условиях чистой культуры независимо от их потенциальной симбиотической активности. Уровень активности пероксидазы в клетках ризобий под влиянием гомологичного лектина возрастал на 35% в вариантах активного штамма 634б и на 45% в вариантах малоактивного штамма 21110. Лектин сои вызывает появление новых белков в бактериальной клетке активного штамма ризобий 64б, выращенного на специальной среде CS7.

В условиях симбиоза «соя – клубеньковые бактерии» специфический растительный лектин способен стимулировать или ингибировать клубенькообразование и азотфиксацию у штаммов с различной активностью. Воздействуя на метаболизм и характер проявления симбиотических свойств ризобий, гомологичный лектин оказывает разнонаправленное действие на проявление генетически детерминированного симбиотического потенциала микросимбионта. Под влиянием растительного лектина клубеньковые бактерии более выражено проявляют свои симбиотические свойства, в связи с чем применение совместной инкубации ризобий с этим белком может служить инструментом для более полной характеристики отдельно взятых штаммов.

# СЕКЦИЯ 5

**МИКРОБНАЯ КОММУНИКАЦИЯ И ЕЕ РОЛЬ  
ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ  
С МАКРООРГАНИЗМОМ-ХОЗЯИНОМ**

## ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ И ДЕГРАДАЦИИ БИОПЛЕНКИ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

*Балко А.Б., Авдеева Л.В.*

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,  
Киев

E-mail: [aleks-balko1@yandex.ru](mailto:aleks-balko1@yandex.ru)

Бактерии вида *Pseudomonas aeruginosa* являются оппортунистическими патогенами человека и в составе биопленки могут вызывать у пациентов с ослабленной иммунной системой различные нозологические формы гнойно-воспалительных заболеваний, характеризующиеся тяжелым течением и высокой летальностью. Широкомасштабные исследования биопленки *P. aeruginosa*, механизмов ее образования, особенностей формирования при различных условиях культивирования и в результате влияния разных факторов находятся на этапе развития. Целью наших исследований было изучение особенностей структурной организации бактериальной биопленки *P. aeruginosa* в процессе ее формирования и деградации.

В качестве тест-объекта использовали штамм *Pseudomonas aeruginosa* УКМ В-900 (АТСС 9027). Процесс формирования биопленки изучали в стационарной системе на стекле, продолжительность наблюдения составляла от 10 мин до 10 сут. Покровные стекла с биопленкой фиксировали, окрашивали генциан-виолетом. Учет результатов проводили методом световой микроскопии с последующим ультрамикротографированием. Анализ данных осуществляли с помощью программ для работы с растровой графикой Adobe Photoshop v. 7.0 и TotalLab v 2.01. Полученные результаты подтверждали с использованием камер для проточного культивирования микроорганизмов.

Отмечено, что начальным этапом образования биопленки было объединение отдельных сорбированных на стекле клеток в определенные структуры. Данный процесс протекал с одновременным формированием образований трех типов – тяжей, розеток и конгломератов. Указанные структуры наблюдались на всех этапах формирования и деградации биопленки и потому рассматривались нами как ее базовые компоненты. В дальнейшем, исходные компоненты объединялись между собой с образованием сетчатой структуры. Группирование клеток продолжалось вокруг конгломератов с последующим образованием предшественников, которые трансформировались в малые и большие островки биопленки. Конечным этапом было слияние островков в большие блоки, которые в дальнейшем трансформировались в неполный, а потом и в сплошной монослой. После накопления максимального количества биомассы начинался процесс деградации, который проходил все этапы ее формирования в обратном порядке. Характерными особенностями протекания процесса деградации было появление в составе биопленки теней клеток и свободного, не связанного с клеточными образованиями, полисахаридного матрикса. Необходимо отметить, что развитие биопленки в стационарной системе на стекле оказалось двовекторным процессом с изменениями не только в часовом, но и в пространственном интервале.

## АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ БИОСИНТЕЗА РЕГУЛЯТОРНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГОМОСЕРИНЛАКТОНА У БАКТЕРИЙ

*Бушманова О.В., Ибрагимова В.Р., Маргулис А.Б.*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

E-mail: Anna.Margulis@ksu.ru

Серьезной проблемой клинической практики является широкое распространение устойчивых форм микроорганизмов, снижающее эффективность применения антибактериальных препаратов. Необходимо отметить, что значительное количество физиологических процессов, происходящих в популяциях совершенно разных микроорганизмов, являются плотностно-зависимыми и осуществляются при участии сигнальных молекул, в частности, ацилированных гомосеринлактонов и их производных. В настоящий момент недостаточно изучены плотностно-зависимые процессы ряда значимых для человека микроорганизмов, особенно представителей естественной микрофлоры, которые вместе с хозяином способны реагировать на ряд стрессовых факторов, таких, как повышенная температура, оперативные вмешательства, дисбактериозы, смена климата и т.д. Этот факт, несомненно, подчеркивает значимость и актуальность нашей работы. Целью нашей работы было выявление потенциальной способности микроорганизмов – в том числе представителей естественной микрофлоры человека – синтезировать ацилированный гомосеринлактон, а также изменять стратегию поведения при его экзогенном воздействии. В работе исследовали следующие бактерии: *Escherichia coli* K12, *Micrococcus luteus*, *Lactobacillus plantarum* 8P-A3, *Salmonella typhimurium* TA 100, *Staphylococcus aureus*. В качестве сигнальной молекулы применяли ацилированный гомосеринлактон (N-гексаноил-DL-гомосеринлактон, ГСЛ) в концентрации 100 нг/мл. С помощью методов биоинформатики проанализировано наличие в геноме исследуемых микроорганизмов последовательностей, кодирующих белки, гомологичные гомосеринлактонсинтазе *Vibrio fischeri* и *Photobacterium phosphoreum*. Пороговое значение e-value для включения белка в результаты анализа составляло 10. На основании сходства последовательностей обнаружено 11 белков у бактерий рода *Lactobacillus* и *Escherichia coli*. Далее было показано, что двухчасовая предобработка гомосеринлактоном суспензий исследуемых бактерий после 10 недель культивирования вызывает задержку наступления логарифмической фазы для каждой из исследованных культур микроорганизмов. Наибольшая задержка выявлена для культуры стафилококка (10 часов). Мы предполагаем, что при добавлении ГСЛ к длительно культивируемым клеткам микроорганизмов, в первую очередь, искусственно включаются какие-либо плотностно-зависимые процессы (например, синтез гемолизина для стафилококка), и лишь затем происходит реакция на питательный субстрат.

*Работа выполнена в рамках программы РНП 2.1.1.1005.*

## ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ ДЕГРАДАЦИЯ МИКРОБНЫХ АУТОРЕГУЛЯТОРОВ: РОЛЬ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В МОЛЕКУЛЯРНОМ СИГНАЛИНГЕ

*Дыкман Р.Л., Камнев А.А.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: aakamnev@ibppm.sgu.ru

Физико-химические процессы с участием различных биологически активных соединений и, в частности, сигнальных молекул, выделяемых многими почвенными микроорганизмами (окисление, фотохимические превращения, гидролиз, комплексообразование с ионами металлов), могут протекать с достаточной скоростью и тем самым способствовать окислительной деградации биоорганических молекул [1]. Целью настоящей работы являлось изучение процессов окисления алкилрезорцинов (АР; химических аналогов микробных ауторегуляторов, выделяемых клетками во внешнюю среду и участвующих в межклеточной коммуникации) железом(III) в слабокислых водных средах, моделирующих условия в достаточно распространенных кислых почвах.

По данным спектрофотометрии, в УФ-области прослежено протекание окислительно-восстановительных процессов в растворах с участием АР и железа(III). Метод ядерной гамма-резонансной (ЯГР; мессбауэровской) спектроскопии на ядрах  $^{57}\text{Fe}$  использован для изучения восстановления Fe(III) в растворах (быстро замороженных до  $T = 80\text{ K}$  в различные моменты времени перед измерениями) алкилрезорцинами и образующихся комплексов, а также химических форм и соотношения Fe(II) и Fe(III) в образующихся твердых фазах (высушенные на воздухе образцы) [2].

Выявлено, что в аналогичных условиях скорость восстановления железа(III) 5-метилрезорцином значительно ниже, чем 4-н-гексилрезорцином. Зафиксированные методом мессбауэровской спектроскопии существенные различия в скорости восстановления железа(III) этими АР указывают на роль их молекулярной структуры (длина и положение алкильного заместителя в ароматическом кольце) в кинетике окислительно-восстановительного процесса. В реальных биосистемах (почва, водоносные слои) подобные процессы, приводящие к окислительной деградации АР, участвующих в межклеточной коммуникации микроорганизмов, могут существенным образом влиять на обмен молекулярными сигналами, снижая их концентрацию в среде.

*Работа частично поддержана в рамках научной программы НАТО (грант ESP.NR.NRCLG 982857) и Соглашения о научном сотрудничестве между РАН и Венгерской академией наук на 2008-2010 гг. (проект № 45).*

1. Kamnev A.A. Plant-microbe interactions / E.A. Barka, C. Clement (Eds.). // Trivandrum: Res. Signpost. – 2008. – Ch. 13. – P. 291-318.

2. Камнев А.А. и др. // Изв. РАН. Сер. физ. – 2010. – Т. 74, № 3. – С. 425-429.

## ВЫЯВЛЕНИЕ ПОЧВЕННЫХ АССОЦИАТИВНЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM IN SITU* С ПОМОЩЬЮ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

*Красов А.И., Матора Л.Ю.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: [mail@krasoff.ru](mailto:mail@krasoff.ru)

Для выявления бактериальных липополисахаридных антигенов в почвенных суспензиях (без стадии посева бактерий на питательную среду или предобогащения бактериями исследуемых образцов почвы на соответствующих средах перед детектированием) предложен подход, включающий приготовление почвенной суспензии с последующей сорбцией бактериальных клеток и липополисахаридов (ЛПС) в составе микроосадка из полученной суспензии, проведение иммуноферментного анализа (ИФА) сформированного микроосадка с антителами на ЛПС с измерением оптической плотности продуктов иммуноферментной реакции и сравнение измеренных значений оптической плотности с контрольными значениями (при этом о наличии бактериальных липополисахаридных антигенов судят по выраженной в процентах разнице значений оптической плотности продуктов ИФА опытных и контрольных образцов).

Иммуноферментный анализ почвенных суспензий с использованием антител на ЛПС был применен для *in situ* выявления соматического антигена интродуцированных в почву (без растений) и в прикорневую зону пшеницы бактерий рода *Azospirillum*. В модельных экспериментах по изучению динамики численности интродуцированных в почву бактерий использовали штамм *A. brasilense* Sp245 и образец почвы чернозема южного, отобранный в левобережном районе Саратовской области. Контролем служила почва без внесения бактериальных клеток. Для оценки динамики выявления специфического антигена после инокуляции почвы в прикорневой зоне растений использовали сорт мягкой яровой пшеницы *Triticum aestivum* cv. Саратовская 29.

Установлено, что максимальное количество специфического антигена в образцах инокулированной почвы, по сравнению с контролем, выявляется на седьмые сутки эксперимента, в то время как в прикорневой зоне пшеницы *Triticum aestivum* cv. Саратовская 29 максимальное количество специфического антигена выявляется на 14-е сутки.

Полученные результаты однозначно характеризовали *A. brasilense* Sp245 как бактерии, развитие которых в почве тесным образом связано с растениями, а также дали основания полагать, что существует некий «лимит» бактериальной массы, поддерживаемой в определенный момент в прикорневой зоне растения.

## РЕАКТИВАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ИЗ ПОЧВ И ДРЕВНИХ ПОДПОЧВЕННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ

*Кряжевских Н.А., Демкина Е.В., Манучарова Н.А., Эль-Регистан Г.И.*

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва

E-mail: [Nataliek.bio@gmail.com](mailto:Nataliek.bio@gmail.com)

Большой интерес представляет изучение бактериальных сообществ, законсервированных в древних погребенных почвах и мерзлых осадках, являющихся закрытыми системами. Численность микроорганизмов в таких природных субстратах, определяемая микроскопированием, не соответствует их количеству, реально выявляемому на питательных средах, что может объясняться пребыванием микроорганизмов в состоянии покоя и принципиальной (не)способностью реактивироваться и делиться. Так как сохранение жизнеспособности популяций обеспечивается наличием межклеточных взаимодействий, осуществляемых с помощью секретлируемых растениями и микроорганизмами регуляторных веществ, изучали действие на законсервированные бактериальные сообщества регуляторов роста:  $\beta$ -индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) и агглютинина зародышей пшеницы (АЗП), которые могут иметь видонеспецифичный и дозозависимый характер.

В модельных опытах при реактивации длительно-хранящихся (12 мес.) покоящихся форм (ПФ) коллекционных бактерий: *Sinorhizobium meliloti* P221 и *Micrococcus luteus* 13267, наилучшие результаты дала инкубация (перед посевом) с ИУК ( $10^{-4}$  М, увеличение КОЕ/мл в 2.4 раза) и АЗП (2.5 мкг/мл, увеличение КОЕ/мл на 5 порядков). Для образцов мерзлых пород наибольший активизирующий эффект достигался при концентрации ИУК  $10^{-5}$  М (увеличение числа КОЕ/г в 2-3 раза), а для образцов палеопочв и современных почв при концентрации ИУК  $10^{-4}$  М. Для образца мерзлых осадков добавление АЗП (5 мкг/мл) дало наибольший прирост КОЕ/г (на 2 порядка).

Методом *in situ* гибридизации (FISH) показано, что численность метаболически активных прокариот размороженного и увлажненного образца мерзлых осадков без специальной обработки и активации микроорганизмов достигала  $10^6$  кл./г, что соответствует 5% от общего количества бактерий (счет с акридином оранжевым). В варианте с предварительной отмывкой ПФ в воде доля метаболически активных клеток возросла на 2 порядка, доля метаболически активных эубактерий от всех прокариот составляла около 63%. Наибольшее реактивирующее влияние на прокариоты оказало воздействие 5 мкг/мл АЗП: доля активных клеток от их общего числа достигла 77%.

Таким образом, с помощью культуральных методов и метода FISH показано положительное, значимое влияние ИУК и АЗП на реактивацию бактерий пермифроста: численность метаболически активных эубактерий возросла в 100 раз, достигая 77% от общей численности прокариот, выявляемой люминесцентным методом.

## **ВЫЯВЛЕНИЕ МЕТАБОЛИТОВ РАСТЕНИЙ, АКТИВИРУЮЩИХ СИСТЕМУ КВОРУМА *PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM* SCRI1043**

Мухамедова Л.Н., Горшков В.Ю., Тарасова Н.Б., Петрова О.Е., Гоголева Н.Е., Гоголев Ю.В.

Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань  
E-mail: snusmumriick@gmail.ru

Одной из ключевых сигнальных систем многих грамотрицательных бактерий является N-ацил-гомосеринлактон (АГЛ)-зависимая система кворума. Функционирование данной системы основано на синтезе и восприятии бактериальных аутоиндукторов, накопление которых регулируется по принципу положительной обратной связи. Система кворума контролирует многие физиологические процессы в бактериальных клетках. У патогенных бактерий она, в частности, регулирует продукцию факторов вирулентности. В последние годы стало очевидным, что помимо ауторегуляторного механизма активации системы кворума существуют альтернативные способы ее модуляции.

Нами продемонстрировано, что метаболиты растений семейства пасленовых влияют на функционирование системы кворума у фитопатогенной бактерии *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 (*Pa*). Метаболиты картофеля и табака при добавлении в питательную среду приводили к сверхэкспрессии гена АГЛ-синтазы и накоплению АГЛ у *Pa*. При этом в присутствии метаболитов картофеля – специфичного для *Pa* хозяина обнаруженные эффекты были более выражены. Показано, что соединения, активирующие систему кворума у *Pa*, не являются функциональными аналогами АГЛ, и, следовательно, наблюдаемые эффекты не являются следствием АГЛ-мимикрии.

Более детальную характеристику растительных метаболитов, влияющих на синтез АГЛ, у *Pa* проводили на примере картофеля. Для этого экстракты побегов фракционировали органическими растворителями. Полученные фракции проверяли на способность активировать экспрессию гена АГЛ-синтазы и синтез АГЛ. Такой скрининг проводили при помощи ПЦР в реальном времени и АГЛ-сенсорного штамма *Escherichia coli* JLD271, несущего плазмиду AL103. Установлено, что факторы растительной природы, обладающие сигнальной активностью в отношении системы кворума *Pa*, являются полярными, низкомолекулярными (молекулярная масса менее 1000 Да), органическими, термостабильными соединениями. Их дальнейшая характеристика и идентификация позволят значительно расширить представления о растительно-микробном взаимодействии, в частности о механизмах распознавания фитопатогенными бактериями специфичного и неспецифичного хозяина.

## **ВЛИЯНИЕ АССОЦИАТИВНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА АНТАГОНИСТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ**

*Семенов А.В.*

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург

E-mail: lever3@yandex.ru

Антагонистические отношения между микроорганизмами являются одним из факторов формирования и функционирования микробных биоценозов. Традиционно антагонистическая активность рассматривается как способность одного вида микроба подавлять развитие или задерживать рост других микроорганизмов. Но в природе бактерии обитают не обособленно, а в составе сообщества, поэтому свойства бактерий в присутствии других микроорганизмов, могут отличаться от наблюдаемых *in vitro*, что диктует необходимость в исследовании влияния ассоциантов на свойства бактерий. Известно, что бактериальный антагонизм подвержен микробной регуляции, однако отношения между симбионтами макроорганизма и использование регуляторов межмикробных отношений на практике изучено недостаточно.

При исследовании в качестве ассоциантов чувствительных культур установлена определяющая роль фрагментов пептидогликана чувствительного штамма в проявлении антагонизма активными культурами, которая заключалась в стимуляции продукции антимикробных факторов, в частности литических ферментов. Изучение отношений между штаммом-антагонистом и чувствительной культурой под воздействием метаболитов и пептидогликанов различных микроорганизмов выявило индифферентное, стимулирующее и ингибирующее действие бактерий-ассоциантов.

В итоге обнаруженные эффекты позволяют рассматривать антагонистическую активность штамма не только как способность одного вида микроба подавлять развитие других микроорганизмов, а как результат взаимодействий между микроорганизмами, где активный штамм выполняет роль продуцента антимикробных веществ, а ассоциативные бактерии определяют возможность и выраженность проявления антагонизма. Регуляцию антагонизма автохтонных бактерий ассоциативными микроорганизмами можно рассматривать как один из механизмов формирования и функционирования микробиоценозов, в том числе направленных на поддержание колонизационной резистентности биотопа. Микробные стимуляторы антагонизма нормальной микрофлоры макроорганизма предложено использовать для получения новых противомикробных биопрепаратов. На основе стимуляции антагонизма при межмикробных взаимодействиях разработана модель для создания поликомпонентных пробиотиков, состоящая из штамма-антагониста и штамма-стимулятора антагонизма.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 08-04-99085, р\_офи и грантом УрО РАН по поддержке молодежных инновационных проектов.*

## МЕЖКЛЕТОЧНАЯ КОММУНИКАЦИЯ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА *P. ATROSEPTICUM* SCRI1043 НА ГОЛОДАНИЕ

Хусаинов И.Ш.<sup>2</sup>, Горшков В.Ю.<sup>1</sup>, Петрова О.Е.<sup>1</sup>, Сорокина Ю.В.<sup>2</sup>, Гоголева Н.Е.<sup>1</sup>,  
Гоголев Ю.В.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

E-mail: iskhusainov@mail.ru

Способность бактерий переживать условия, неблагоприятные для роста, является их важным адаптивным свойством. Активация физиологической программы переживания стрессовых условий находится под контролем систем межклеточной коммуникации и, следовательно, требует достаточно высокой плотности популяции. Однако в естественных экосистемах микроорганизмы могут быть подвержены стрессовому воздействию и при низкой концентрации клеток. В связи с этим мы проанализировали способность клеток *P. atrosepticum* выживать в условиях голодания при низком исходном титре клеток.

Показано, что в условиях голодания при низкой плотности популяции (менее  $10^6$  КОЕ/мл) происходило увеличение титра культивируемых клеток и титра геномных копий культур *P. atrosepticum*. Это свидетельствует о том, что даже в отсутствие субстрата в таких культурах происходит деление клеток. При высоком исходном титре клеток (более  $10^7$  КОЕ/мл) происходило снижение показателей КОЕ.

Наблюдаемые процессы корректировки численности популяции в условиях голодания, по-видимому, способствуют установлению наиболее оптимального титра клеток для персистенции микробов и осуществляются посредством межклеточной коммуникации. Для проверки этого предположения мы оценили особенности функционирования ацилгломосерин лактон (АГЛ)-зависимой системы межклеточной коммуникации. Для этого мы определили динамику экспрессии гена АГЛ-синтазы, а также накопления АГЛ в супернатантах культур *P. atrosepticum*. Оказалось, что остановка деления клеток на безуглеродной среде совпадала по времени с индукцией экспрессии гена АГЛ-синтазы и накоплением АГЛ в среде. Это позволяет предположить, что накопление АГЛ в условиях голодания может служить сигналом для остановки клеточного деления. Однако экзогенный АГЛ не влиял на пролиферацию бактерий в исследуемых условиях. В свою очередь, компоненты кондиционированных сред от голодающих культур, прошедших стадию деления, ингибировали деление клеток. Это свидетельствует о наличии и других, помимо АГЛ, бактериальных метаболитов, принимающих участие в регуляции численности микробной популяции при стрессе. Таким образом, в условиях голодания в популяциях *P. atrosepticum* происходит оптимизация численности популяции, которая осуществляется при участии бактериальной межклеточной коммуникации.



# СЕКЦИЯ 6

**МИКРОБНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ  
НА ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ**

## СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД К ПРОВЕДЕНИЮ ЦИТО-ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

*Буров А.М.<sup>1</sup>, Горбатов А.А.<sup>2</sup>, Широков А.А.<sup>1</sup>, Захарова Н.Б.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

<sup>2</sup> Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов  
E-mail: Burov\_AM@rambler.ru

Современное развитие цито-гистологических и иммуногистохимических методов исследования в биологии и медицине предусматривает автоматизацию процессов получения и обработки визуальной информации микропрепаратов и объективный анализ полученных данных.

Одним из эффективных решений поставленных задач может быть использование комбинированной автоматизированной платформы системы **Ariol SL50 (Genetix)**, которая обеспечивает высокую производительность процессов визуализации, анализа и гистометрии препаратов в проходящем свете и с помощью методов флуоресценции. Система может быть использована при проведении многокомпонентного анализа окрашенных препаратов, определении биомаркеров при иммуногистохимических, иммунофлуоресцентных пробах, в реакции флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), при выявлении микрометастазов, ploидности и тканевой принадлежности клеток, изучении ангиогенеза.

Так, нами было проведено морфометрическое исследование микропрепаратов биоптатов почек у больных калькулезным пиелонефритом с помощью системы Ariol SL50. В настоящее время лишь морфометрические показатели позволяют производить дифференциальную диагностику стадии поражения почек при мочекаменной болезни в соответствии с международными стандартами, что в клинической практике применяется достаточно редко.

С этой целью нами была выполнена оценка общей площади рубцово-склеротических изменений вокруг клубочков, сосудов и канальцев, инфильтратов из полиморфно-ядерных лейкоцитов, лимфоцитов и плазматических клеток и установлено соотношение изменений в паренхиме почек, характерных для старого процесса и свежих воспалительных изменений. Результаты морфометрического исследования нашли соответствие с клинико-функциональным критериям обострения хронического калькулезного пиелонефрита.

Таким образом, полученные нами результаты с применением системы Ariol SL50 могут быть использованы для прогноза степени восстановления функции почек при длительном существовании препятствия оттоку мочи в виде камня после оперативного вмешательства и для оценки эффективности других методов активного лечения мочекаменной болезни.

## ПОЛУЧЕНИЕ КОНЬЮГАТОВ АНТИБИОТИКОВ С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ

*Бурыгин Г.Л., Хлебцов Н.Г.*

Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: gena@ibppm.sgu.ru

Поиск новых эффективных лекарственных форм является важнейшей задачей современной биотехнологии. Наночастицы являются перспективными объектами для повышения эффективности лекарств, благодаря большой суммарной сорбционной поверхности раствора наночастиц и высокой проникающей способности одной отдельной частицы.

Целью данной работы было изучение эффективности использования конъюгатов наночастиц золота с антибиотиками в антимикробной терапии.

В работе были использованы широко применяемые в лечебной практике антибиотики, различающиеся по строению и механизму действия.

Было определено, что растворы аминогликозидов при рН 10 и ниже вызывают коагуляцию золотых наночастиц, что проявляется в изменении цвета золя золота с красного на синий в течение нескольких секунд, что связано с наличием в их составе нескольких аминогрупп, в водной среде диссоциирующих с образованием положительно заряженных функциональных групп. При этом такие смеси аминогликозидов с коллоидным золотом (КЗ) не приводили к повышению антимикробной активности антибиотика по сравнению с растворимой формой.

Другие изученные нами антибиотики не вызывали коагуляции золя золота, кроме левомицитина в самой высокой концентрации (0.1 мг/мл), но при этом ампицилин, бициллин и левомицетин не стабилизировали наночастицы золота, что вызывало агрегацию золотых частиц в присутствии солей и делало непригодными данные смеси для использования. И только растворы цефазолина и цефтриаксана стабилизировали КЗ в концентрациях 3 мкг/мл и 6 мкг/мл, соответственно.

Измерение спектра поглощения света и электронная микроскопия показали, что подавляющее большинство наночастиц КЗ остается в виде отдельных частиц. Конъюгаты цефалоспориновых антибиотиков с КЗ были использованы для определения их антимикробной активности. При культивировании бактерий штамма *E. coli* XL-1 в среде LB, содержащей цефалоспориновые антибиотики, цефотаксим и цефтриаксон, методом двукратных разведений было определено, что конъюгаты цефотаксима с КЗ в 2 раза понижают минимальную концентрацию, при которой отсутствует рост культуры (МИК) до 125 мкг/мл, не влияя на максимальную толерантную концентрацию, при которой не наблюдается различий в росте, по сравнению с контролем (МТК, 15 мкг/мл), а конъюгаты цефтриаксона, по сравнению с растворимой формой, снижают как МИК (с 125 мкг/мл до 62 мкг/мл), так и МТК (с 15 мкг/мл до 8 мкг/мл). Таким образом, показана способность цефалоспориновых антибиотиков (цефотаксима и цефтриаксона) образовывать стабильные конъюгаты с наночастицами золота, которые обладают более активными антимикробными свойствами.

## СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА СОБАК В УСЛОВИЯХ СОДЕРЖАНИЯ ПИТОМНИКА

*Дядькина А.С., Чхенкели В.А., Горяева Н.А.*

Иркутская государственная сельскохозяйственная академия, Иркутск

E-mail: [nasty-dyadkin@yandex.ru](mailto:nasty-dyadkin@yandex.ru)

Кинологические службы силовых ведомств РФ стремительно развиваются. Тем более важно сохранение здорового поголовья служебных собак. Однако клинико-лабораторное обследование собак не включает бактериологические исследования, которые необходимы для обнаружения причин аллергий, дерматитов, гастроэнтеритов, иммунодепрессивных состояний. В связи с этим нет четких данных о качественном и количественном соотношении микрофлоры кишечника здоровых собак, не определена роль факторов, вызывающих нарушения микробиоценоза кишечника, плохо изучена природа бактерионосительства собак.

Цель настоящей работы заключалась в изучении микрофлоры кишечника служебных собак питомника Учебного центра ГУФСИН России по Иркутской области. Было обследовано 16 клинически здоровых служебных собак в возрасте от 1.5 месяцев до 3 лет. Кормление осуществлялось сухим кормом «Royal canin». Особый интерес представляло выделение *Escherichia coli* серотипа O157:H7, вызывающей ряд серьезных заболеваний у человека.

Полученные результаты интерпретируются нами как показатели нормофлоры кишечника собаки, содержащейся в условиях питомника. Установлено, что качественное содержание облигатных и факультативных микроорганизмов аналогично с кишечником человека, а количественное содержание – несколько ниже. Среднее содержание бифидобактерий составляло  $10^7$ - $10^8$  КОЕ/г, лактобактерий –  $10^6$ - $10^8$  КОЕ/г, эшерихий с нормальной ферментативной активностью –  $10^6$ - $10^7$  КОЕ/г, энтерококков –  $10^4$ - $10^5$  КОЕ/г. В группе собак *E. coli* серотипа O157:H7 была выделена у двух собак (12.5% поголовья), отмечено бактерионосительство патогенной *E. coli* серотипа O157:H7 без клинического проявления симптомов заболевания. Установлено, что микрофлора формируется 8-9 ассоциациями анаэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов. Основную часть облигатной микрофлоры составляют бифидобактерии и лактобактерии. Пропионовые бактерии наряду с ними составляют группу нормальных кислотообразователей. Эшерихии стимулируют антителообразование и оказывают мощное иммуномоделирующее действие. К факультативным и транзиторным относятся бактероиды, пептококки, негемолитические стафилококки, непатогенные стрептококки, обладающие антагонистической активностью и стимулирующие выработку иммуноглобулинов, бациллы, фузобактерии, неферментирующие бактерии, дрожжеподобные грибы. Наши данные подтверждают эпидемическую значимость собак как бактерионосителей *E. coli* O157:H7, что значительно повышает риск заражения людей и их заболеваемости геморрагическим колитом и гемолитико-уремическим синдромом.

## ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И ЦИТОКИНОВАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЙ *PAENIBACILLUS POLYMYXA* 1465

Егоренкова И.В.<sup>1</sup>, Трегубова К.В.<sup>1</sup>, Фомина А.А.<sup>2</sup>, Коннова С.А.<sup>2</sup>, Игнатов В.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

<sup>2</sup> Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов  
E-mail: room406@ibppm.sgu.ru

Почвенные бактерии *P. polymyxa* стимулируют рост и развитие широкого круга растений и известны как активные продуценты экзополисахаридов (ЭПС). Поскольку для ряда штаммов *P. polymyxa* показано, что синтезируемые ими экзогликаны являются активными стимуляторами защитных сил организма, цель наших исследований состояла в выявлении цитокиновой активности ЭПС *P. polymyxa* 1465 (ЭПС<sub>1465</sub>). Учитывая, что цитокины являются важнейшими регуляторами воспалительных и иммунных процессов, их определение стало полезным диагностическим тестом. Мы изучали индукцию синтеза основных провоспалительных цитокинов: ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ , мононуклеарами периферической крови человека в динамике моделирования процесса фагоцитоза *E. coli* Са53 на фоне действия ЭПС<sub>1465</sub>, синтезируемых на средах с глюкозой (ЭПС<sub>Гл</sub>) и сахарозой (ЭПС<sub>сах</sub>).

Показано, что ЭПС<sub>1465</sub> являются гетерогенными по молекулярной массе ( $7 \cdot 10^4$ - $2 \cdot 10^6$  Да) и заряду полисахаридами, содержащими 72-75% углеводов и 1.6-2.2% белка. Обнаружено преобладание в препаратах ЭПС<sub>Гл</sub> высокомолекулярных кислых фракций, что коррелировало с более высокой вязкостью растворов ЭПС. В состав ЭПС<sub>Гл</sub> преимущественно входили Man, Glc, Gal в соотношении 2:2.5:1, уроновые кислоты и аminosахариды; в ЭПС<sub>сах</sub> отмечалось существенное сокращение доли Gal и уроновых кислот. Показано, что ЭПС<sub>Гл</sub> является нерегулярным по структуре, разветвленным гетерогликаном, основная цепь которого образована (1 $\rightarrow$ 4)- и (1 $\rightarrow$ 6)-связанными остатками гексоз, с преобладанием  $\beta$ -гликозидных связей.

Установлена умеренная стимуляция ЭПС<sub>1465</sub> продукции основных провоспалительных цитокинов, однако характер их воздействия сильно различался. ЭПС<sub>Гл</sub> стимулировал продукцию ИЛ-1 $\beta$  с 1 ч процесса фагоцитоза, концентрация ИЛ-1 возрастала до 6 ч, а затем к 24 ч снижалась до уровня контрольных значений. В присутствии ЭПС<sub>сах</sub>, напротив, содержание ИЛ-1 $\beta$  начинало увеличиваться с 4 ч, с 6 ч существенно превышало контроль, а к 24 ч было максимальным. Индукцию синтеза ФНО- $\alpha$  на фоне действия ЭПС<sub>1465</sub> наблюдали только на завершающих стадиях фагоцитоза: так, к 24 ч, в присутствии ЭПС<sub>сах</sub> содержание ФНО- $\alpha$  превышало в 10 раз контроль, составив 30 пг/мл.

Отмеченные нами некоторые различия в цитокиновой активности препаратов ЭПС<sub>Гл</sub> и ЭПС<sub>сах</sub> могут объясняться отличиями по молекулярной массе, составу и структуре данных полисахаридов.

## ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТОВ *STREPTOMYCES GLOBISPORUS* 1912 ПОД ДЕЙСТВИЕМ НИТРОЗОГУАНИДИНА

Лутченко В.А.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,  
Киев

E-mail: vlutchenko@serv.imv.kiev.ua

Среди микроорганизмов, используемых в промышленности, особое место занимают почвенные бактерии рода *Streptomyces*, которые являются важными источниками новых вторичных метаболитов с широким диапазоном биологического действия. Успешная селекция продуцентов биологически-активных веществ основывается на возможности направленной изменчивости исходной культуры по определенным признакам и исследовании биохимических свойств полученных мутантов. Целью данной работы было получение мутантных культур, продуцентов биологически-активных веществ, и изучение их свойств. В работе использовали *S. globisporus* 1912 – спорулирующий прототроф с низким уровнем синтеза ландомицина E и способностью синтезировать вещества, для которых была показана позитивная регуляция биосинтеза ландомицина E.

Экспозиция спор *S. globisporus* 1912 в реакционной смеси с нитрозогуанидином в концентрации 3.0 мг/мл составляла 60 мин.

Частота выделения мутантов у *S. globisporus* 1912 составила 0.86% из 6020 проверенных колоний, что соответствует 52 мутантам, которые отличались по способности продуцировать пигменты и не реверсировали в исходный тип.

Следующим заданием нашей работы являлась проверка всех полученных мутантов на наличие антибиотической активности по отношению к тестерному штамму *S. levoris* 165 и способность к косинтезу ландомицина E.

Мутанты 1, 4, 12, 22, 24 и 65 проявили антибиотическую активность по отношению к тестерному штамму, образуя зоны задержки роста в диапазоне 14-17 мм вокруг блоков исследуемых культур, выращенных на полноценной соевой среде.

Большинство из полученных в результате мутагенеза мутантов были отнесены к группе секреторов ( $LndE^- Gsn^+$ ), которые не синтезируют ландомицин E, но образуют генистеиноподобное вещество – 1, 4, 6, 12, 19, 20, 22, 55, 65 и 68. Штаммы 5, 8, 79 отнесены к группе мутантов  $LndE^- Gsn^-$ , у которых не возобновляется синтез антибиотика при внесении в среду культивирования экзогенного генистина. Мутант 24 проявил повышенный уровень синтеза ландомицина E на соевой среде.

Таким образом, в результате мутагенеза, индуцированного высокоэффективным химическим мутагеном нитрозогуанидином, у *S. globisporus* 1912 получена серия мутантов, отличающихся между собой и исходной культурой, способностью синтезировать пигменты и антибиотики неизвестной природы на полноценной соевой среде.

## ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ГРИБА-КСИЛОТРОФА *TRAMETES PUBESCENS* (SHUMACH.:FR.) PILAT

*Мартынова А.Ю., Чхенкели В.А.*

Иркутский филиал Института экспериментальной ветеринарии Сибири  
и Дальнего Востока СО Россельхозакадемии, Иркутск  
E-mail: [chkhenkeli@rambler.ru](mailto:chkhenkeli@rambler.ru)

Наряду со специфической профилактикой инфекционных желудочно-кишечных заболеваний в животноводстве применяют сыворотки, бактериофаги, нормальные глобулины сывороток крови животных, иммуномодулирующие препараты, пробиотики. В последнее время особое внимание привлекает использование препаратов, получаемых на основе природного сырья. В Иркутском филиале ИЭВС и ДВ разработан препарат полифункционального действия Леван-2 на основе дереворазрушающего гриба *Trametes pubescens* (Shumach.) Pilat., получаемый с использованием современных методов биотехнологии. Изучение его профилактической эффективности проводили на базе «ОПХ Байкало-Сибирское». В качестве препарата сравнения использовали пробиотический препарат Интестевит на основе культур микроорганизмов *Bifidobacterium globosum*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis*. Было сформировано 2 опытных и контрольная группы по 5-7 телят черно-пестрой породы 10-15-дневного возраста. В первой опытной группе с профилактической целью препарат Леван-2 выпаивали с молоком один раз в сутки в дозе 60 мл на голову в течение 14 дней. Животные второй группы получали Интестевит в дозе 0.2 г на голову *per os*. Исследование проводилось на фоне вакцинации против колибактериоза стельных коров и новорожденных телят. Критерием оценки профилактической эффективности препаратов служили результаты клинических, гематологических, биохимических и иммунологических исследований. Во второй опытной группе у двух из 6 телят на основе клинических, лабораторных исследований был поставлен диагноз колибактериоз. У телят, получавших препарат Леван-2, отмечали улучшение общего состояния, увеличение привеса, а при дальнейшем наблюдении увеличение сопротивляемости к другим заболеваниям. По результатам исследований установлено, что препарат Леван-2 позволяет повысить фагоцитарную и бактерицидную активность сыворотки крови в более значительной степени, чем пробиотический препарат Интестевит.

Установлено, что наряду с высокой антимикробной активностью препарата Леван-2 в отношении культур семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных из кишечника телят, не отмечается уменьшения численности бифидо- и молочнокислых бактерий в желудочно-кишечном тракте экспериментальных животных, что подтверждает его экологическую безопасность и возможность применения для лечения и профилактики массовых желудочно-кишечных болезней телят.

## **ВЛИЯНИЕ АЛКИЛОКСИБЕНЗОЛОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АНТИТЕЛ**

*Романенко Н.А.*

Оренбургский государственный университет, Оренбург

E-mail: romanenko-na@yandex.ru

Алкилоксибензолы (АОБ) – малые ауторегуляторные молекулы микробного и растительного происхождения с чрезвычайно широким спектром биологической активности. Помимо способности индуцировать переход бактерий в гипометаболическое состояние, известны факты их влияния на функциональные характеристики молекул и клеток высших эукариот. Учитывая тот факт, что АОБ в значимых количествах поступают в организм человека с пищей, а также эндогенно образуются некоторыми представителями микробиоценоза, данная группа молекул может рассматриваться в качестве потенциальных участников ряда физиологических и патологических процессов. Однако до настоящего времени отсутствуют данные, описывающие эффекты АОБ в отношении антител – неферментных иммунных белков человека и животных.

Целью настоящей работы стало изучение влияния алкилоксибензолов на активность антител (иммуноглобулинов), а также на функциональную и операционную стабильность данных молекул при различных воздействиях.

Установлено, что в зависимости от особенностей химической структуры и используемых концентраций АОБ способны подавлять взаимодействие специфических антител с соответствующими антигенами. В основе данных процессов лежит уменьшение аффинности модифицированных АОБ иммуноглобулинов, а сам подобный эффект в большей степени развивается в отношении низкоавидных, но не высокоавидных антител. Существенной особенностью биологической активности АОБ в отношении молекул антител является частичное изменение их специфичности с возникновением возможности связывания с гетерологичными антигенами. Показана возможность делокализации эффекта АОБ по всей молекуле антитела, в том числе затрагивающей активность его консервативного Fc-фрагмента.

Предварительная инкубация антител в контакте с АОБ разнонаправлено влияет на их чувствительность к термоденатурации и УФ-облучению, а также изменяет диапазон активности при различных значениях pH. При длительном нахождении модифицированных АОБ антител в водных растворах происходит восстановление показателей их связывания с соответствующими антигенами, а в некоторых случаях и существенное увеличение сроков сохранения подобной биологической активности.

Полученные результаты позволяют по-новому оценить роль образуемых бактериями низкомолекулярных ауторегуляторных факторов в системе «симбионт-хозяин», в том числе реализующуюся через воздействие на гуморальные факторы иммунной системы человека и животных.

## НОВЫЕ СИАЛОСПЕЦИФИЧНЫЕ ЛЕКТИНЫ (ИЗ *BACILLUS SUBTILIS* И *DIOSPYROS KAKI* TH.): ИХ ОСОБЕННОСТИ И АНТИВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ

*Сащук Е.В.*<sup>1</sup>, *Старосила Д.Б.*<sup>3</sup>, *Карпова И.С.*<sup>2</sup>, *Рыбалко С.Л.*<sup>3</sup>, *Коваленко Э.А.*<sup>1</sup>,  
*Кочубей Т.А.*<sup>2</sup>, *Гетьман Е.И.*<sup>1</sup>, *Подгорский В.С.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,  
Киев

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев

<sup>3</sup>Государственное учреждение «Институт эпидемиологии и инфекционных  
болезней им. Л.В. Громашевского АМН Украины», Киев

E-mail: sashchuk@gmail.com

Лектины – это широко распространенная в живой природе группа белков или гликопротеинов с уникальной способностью избирательно и обратимо связывать углеводы и углеводсодержащие биополимеры. У животных весьма распространенным является семейство сиалоспецифичных лектинов – siglecs. Однако подобные лектины среди представителей растений и микроорганизмов встречаются крайне редко.

Ранее с применением метода изоэлектрофокусирования был выделен и охарактеризован внеклеточный сиалоспецифичный лектин сапрофитного штамма *B. subtilis* ИМВ В-7014 и его изоформы (щелочная, кислая и промежуточная). Для щелочной формы установлена способность ингибировать транскрипцию *in vitro* с участием РНК-полимеразы фага Т7. Мажорный компонент проявил высокое сродство к N-ацетилнейраминной кислоте и муцину подчелюстной железы быка. Этот препарат обладал выраженным антивирусным действием в отношении вирусов в дозах (мкг/мл): ВИЧ-1 – 5, герпеса 1 и 2 типов – 12.5, гриппа А/М/1/47/Н1N1/ – 10-50 и суррогатного гепатита С – 10-125.

Хурма (*Diospyros kaki* Th.) – диетическое и лекарственное растение, широко используемое в альтернативной медицине стран Востока. Нами показано, что, в отличие от листьев и плодов, чашелистики хурмы не содержат гемолизинов и являются источником высокоактивного сиалоспецифичного лектина. Одна из изоформ, полученных с помощью изоэлектрофокусирования, проявляла сродство к некоторым белкам (дифтерийному токсиду и коллагену), чем напоминала лектин хлебного дерева jakalin – перспективный препарат, ингибирующий ВИЧ. Изучение антивирусной активности показало, что лектин *D. kaki* взаимодействовал с рецепторами поверхностных антигенов вирусов в дозах (мкг/мл): ВИЧ-1 – 1.5-50, герпеса 1 типа – 6.2-25, гриппа – 6-12.5, гепатита С – 6-25.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что структурные особенности изученных сиалоспецифичных лектинов являются основой как прямого взаимодействия с рецепторами клеточных мембран, так и действия опосредованного внутриклеточными процессами, мишенями которых могут быть белки транскрипционного комплекса.

## **ВЛИЯНИЕ АЛКИЛОКСИБЕНЗОЛОВ И ГОМОСЕРИНЛАКТОНОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЙТРОФИЛОВ**

*Свиридова Т.Г.*

Оренбургский государственный университет, Оренбург

E-mail: kobtg@yandex.ru

Бактериальные ауторегуляторы – алкилоксибензолы (АОБ) и гомосеринлактоны (ГСЛ) – малые молекулы, обеспечивающие межклеточную коммуникацию с индукцией структурной или функциональной дифференцировки микроорганизмов. Так, АОБ вызывают переход бактериальных клеток в гипометаболическое состояние, а ГСЛ участвуют в формировании «чувства кворума», запуская экспрессию определенных групп генов. Вместе с тем накапливаются данные и о возможности реализации биологической активности бактериальных ауторегуляторов в гетерологичных системах, в частности, в отношении молекул и клеток высших эукариот.

Целью настоящей работы явилось исследование эффектов химических аналогов бактериальных ауторегуляторных факторов на функциональные характеристики нейтрофилов периферической крови человека.

В фагоцитарной системе установлено ингибирующее действие АОБ и ГСЛ на развитие «окислительного взрыва» нейтрофилов, регистрируемого в реакции люминолзависимой хемилюминесценции. Подобная активность характеризуется прямой концентрационной зависимостью, более выражена у ГСЛ по сравнению с АОБ, а в рядах гомологов химических аналогов данных ауторегуляторных молекул возрастает с увеличением длины их углеводородных радикалов.

Попытка связать регистрируемые эффекты АОБ и ГСЛ с их антиоксидантными свойствами свидетельствовала о малой значимости подобного механизма. Более того, анализ про- и антиоксидантных свойств ауторегуляторных факторов в бесклеточной ферментной системе свидетельствовал о наличии слабых антиоксидантных свойств только у АОБ, в то время как ГСЛ в аналогичных условиях проявляли прооксидантную активность.

В качестве другой возможной причины было проанализировано влияние бактериальных ауторегуляторов на жизнеспособность нейтрофилов, свидетельствующее о развивающейся в подобных условиях дозозависимой гибели клеток-мишеней. Одновременно полученные данные свидетельствовали о существовании диапазона концентраций АОБ и ГСЛ, не оказывающего существенного влияния на жизнеспособность нейтрофилов, но значительно снижающего интенсивность их «окислительного взрыва» при фагоцитозе.

Полученные результаты свидетельствуют в пользу существования у бактериальных ауторегуляторных молекул иммуномодулирующих и противовоспалительных свойств, одновременно определяя перспективу дальнейшего исследования природы данного явления.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФАГОВОЙ БИБЛИОТЕКИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ АНТИТЕЛ НА ФЕРРИТИН

*Фомин А.С.<sup>1</sup>, Староверов С.А.<sup>2</sup>, Винников Н.Т.<sup>1</sup>, Дыкман Л.А.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет  
им. Н.И. Вавилова», Саратов

<sup>2</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии  
растений и микроорганизмов РАН, Саратов  
E-mail: [dykman@ibppm.sgu.ru](mailto:dykman@ibppm.sgu.ru)

Анемия – одно из наиболее распространенных заболеваний крупного рогатого скота, характеризующееся снижением концентрации гемоглобина и гематокрита. Начальная стадия заболевания характеризуется снижением уровня содержания ферритина в крови. В настоящее время не существует диагностических систем для определения уровня ферритина в сыворотке животных, а видовая специфичность не позволяет использовать тест-системы, предназначенные для человека.

В связи с этим целью наших исследований стало получение мини-антител к ферритину для дальнейшего создания с их помощью диагностической тест-системы. Для селекции фагов, несущих антитела к ферритину, в качестве твердой фазы для закрепления антигена использовали планшет для ИФА. В лунку вносили 200 мкл антигена и инкубировали в течение ночи при +4°C. Затем блокировали незанятое антигеном пространство на стенках планшета 2% раствором сухого обезжиренного молока в течение 1 ч. После чего вносили 200 мкл библиотечного фага в концентрации 10<sup>12</sup> частиц/мл в растворе TBS-T и инкубировали 1 ч при 37°C. После чего планшет отмывали пятикратно буфером TBS-T. Элюцию связанных фаговых частиц проводили 0.1 М глицин-HCl буфером. Элюированные фаговые частицы использовали для инфицирования клеток *E. coli* штамма XL1 Blue. Клетки *E. coli*, зараженные отселектированными фагами, выращивали при 37°C в течение ночи в 10 мл жидкой среды 2TY, содержащей 100 мкг/мл ампициллина и 1% глюкозы. 1/100 частью полученной культуры инокулировали 10 мл той же среды и растили при интенсивном встряхивании до оптической плотности  $A_{600} = 0.3$ . Затем добавляли фаг-помощник M13 K07 и инкубировали в течение часа при 37°C. После инкубации клетки осаждали центрифугированием при 2000 g 10 мин. Осадок клеток ресуспендировали в 50 мл среды 2TY, содержащей 100 мкг/мл ампициллина, 50 мкг/мл канамицина и 100 мкг/мл изопропилтиогалактазида, растили в течение ночи при 37°C. Ночную культуру клеток центрифугировали 40 мин при 3000 g. К супернатанту, содержащему фаговые частицы, добавляли 1/5 объема раствора ПЭГ/NaCl. Концентрацию фаговых частиц определяли спектрофотометрически. Препарат фаговых частиц использовали для проведения последующих двух раундов селекции.

В результате проведенных исследований были получены следующие данные: титр наработанных нами мини-антител составлял 1:8192, чувствительность метода составила 7.5 нг.

## БИОСЕНСОРНЫЕ СВОЙСТВА ПЛЕНОК НА ОСНОВЕ ИЗОЛЯТОВ ГРИБА ШИИТАКЕ ПРИ АКУСТОЭЛЕКТРОННОМ ДЕТЕКТИРОВАНИИ ЛЕТУЧИХ СОЕДИНЕНИЙ

Шихабудинов А.М.<sup>1</sup>, Зайцев Б.Д.<sup>1</sup>, Цивилева О.М.<sup>2</sup>, Панкратов А.Н.<sup>3</sup>,  
Кузнецова И.Е.<sup>1</sup>, Козлова А.В.<sup>3</sup>, Никитина В.Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Саратовский филиал Учреждения Российской академии Института радиотехники и электроники РАН, Саратов

<sup>2</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

<sup>3</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов  
E-mail: zai-boris@yandex.ru, kuziren@yandex.ru

Многообещающим является использование в качестве чувствительных элементов пьезокварцевых резонаторов, потенциально обладающих высокой селективностью, пленок, образующихся после испарения растворителя из экстрактов мицелия высших грибов.

Проведено систематическое изучение отклика пьезокварцевого резонатора, модифицированного экстрактами мицелия высшего гриба *Lentinula edodes* (шиитаке), на газы (аммиак, хлороводород, формальдегид) и летучие жидкости (ацетон, уксусная кислота, этилацетат, хлороформ). По критериям величины изменения резонансной частоты и характера релаксации образцы, подвергнувшиеся воздействию аммиака, разделены на шесть групп. Осуществлен первичный отбор трех лучших образцов для более глубокого исследования.

С помощью процедуры фиттингового моделирования в чистом виде выделена составляющая отклика резонатора, обусловленная пленкой из экстракта мицелия. Получены значения массы пленок, вязкости и модуля упругости.

Дано объяснение влияния летучих соединений на пленку из экстракта мицелия как субъектов электростатического взаимодействия, эффекторов набухания, протоноакцепторов и протонодоноров при формировании водородных связей, кислот-солеобразователей.

На основании анализа результатов моделирования выявлены системы «добавка к мицелиальной культуре – концентрация добавки – экстрагент – летучее вещество», перспективные для создания сенсорных устройств с биомодификатором на основе мицелиальных экстрактов. Важным преимуществом предполагаемых будущих датчиков является возможность получения информации о наборе физических параметров сенсорного слоя при детектировании целевого летучего вещества.

Наиболее интересными, с точки зрения яркости проявления сенсорных свойств и информации о наборе физических параметров сенсорного слоя, являются следующие комбинации добавки к среде культивирования и летучего вещества: индолил-3-ацетамид – этилацетат, индол – уксусная кислота, индол – хлороводородная (соляная) кислота, триптамин – хлороформ, триптамин – формальдегид.

## РАЗВИТИЕ ИММУННОГО ОТВЕТА КРОЛИКОВ НА ФИКСИРОВАННЫЕ ГЛУТАРОВЫМ АЛЬДЕГИДОМ БАКТЕРИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ

*Шувалова Э.В.<sup>1</sup>, Бурьгин Г.Л.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

<sup>2</sup>Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

E-mail: gena@ibppm.sgu.ru

Изучение природы и механизмов специфического иммунного ответа, поиск средств, которые могут этот ответ индуцировать и регулировать, являются актуальными задачами современной медицинской науки в области иммунопрофилактики. Использование адъювантных веществ одновременно с инаktivацией вакцинной культуры может значительно упростить процесс иммунизации и повысить выработку антител. Целью данной работы являлось сравнение специфического иммунного ответа животных на введение им интактных и фиксированных бактерий.

Для работы использовали суточную культуру *Azospirillum lipoferum* SR16 интактную и обработанную глутаровым альдегидом. Иммунизации проводили 3 раза с периодичностью в 10 дней. Перед началом иммунизации, перед каждым следующим введением антигенов и через 7 и 60 дней после последней иммунизации из краевой ушной вены проводили забор крови, из которой получали сыворотку.

При анализе полученных сывороток было обнаружено, что происходит значительное увеличение содержания белка во время иммунизации с последующим снижением к первоначальной концентрации к 60-му дню после иммунизации. При этом изменение концентрации иммуноглобулинов в сыворотке, измеренное методом иммуноферментного анализа (ИФА), имело ту же закономерность. Отмечено, что при иммунизации кроликов интактными клетками наблюдается более сильный иммунный ответ, но введение живых бактериальных клеток приводило к проявлению токсических эффектов.

При изучении специфичности иммунного ответа было показано, что титр выявления клеток штамма *A. lipoferum* SR16, измеренный методом ИФА, вырос уже после первой иммунизации, значительно увеличился к моменту забора крови после третьей иммунизации и оставался на высоком уровне даже через 60 дней после последней иммунизации. Из сыворотки крови, отобранной через 7 дней после последней иммунизации фиксированными клетками, методом высаливания в полунасыщенном растворе сульфата аммония была получена фракция иммуноглобулинов, для которой была установлена групповая специфичность. Это подтверждается отсутствием взаимодействия данных антител с клетками типового штамма вида *A. lipoferum* Sp59b в иммунодиффузионном и иммуноферментном анализах. При этом штаммы, входящие в одну серогруппу вместе со штаммом *A. lipoferum* SR16, выявлялись с разной степенью интенсивности. Таким образом, выявлены различия развития иммунного ответа у кроликов при введении им интактных и фиксированных бактериальных клеток.

## **NO-СИНТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАКТОБАЦИЛЛ КАК МЕХАНИЗМ ИХ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ**

*Яруллина Д.Р., Смоленцева О.А., Ильинская О.Н.*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань

E-mail: yadinka@mail.ru

Бактерии рода *Lactobacillus* являются основой многих отечественных пробиотических препаратов: «Лактобактерин», «Биобактон», «Гастрофарм», «Ацилакт», «Кипацид», «Аципол» и др. При употреблении в адекватных количествах пробиотики улучшают здоровье человека и животных – повышают колонизационную резистентность, усиливают иммунитет, предотвращают развитие аллергических осложнений, оказывают гипохолестеринемический, противоопухолевый и другие положительные эффекты на организм. Выяснение молекулярных механизмов действия пробиотиков представляет собой актуальную задачу, поскольку открывает перспективы создания новых высокоэффективных средств коррекции дисбактериозов.

В нашей работе впервые обнаружена способность лактобацилл синтезировать оксид азота (NO) – универсальный регулятор клеточного и тканевого метаболизма в организме человека и животных.

Объектом исследования служили бактерии *L. plantarum* 8P-A3, выделенные из препарата «Лактобактерин сухой» (ФГУП «Пермское НПО «Биомед»). Продукция оксида азота исследуемыми микроорганизмами была зарегистрирована прямым методом ЭПР-спектроскопии с использованием комплекса диэтилдитиокарбамата с железом в качестве спиновой ловушки NO и подтверждена методом окрашивания флуоресцентными индикаторами NO DAA и DAF-FM и флуоресцентной микроскопии. Экспериментальные данные сопоставлены с данными компьютерного анализа генома *L. plantarum* на наличие генетических детерминант синтетических путей, ведущих к образованию NO. Изучено влияние L-аргинина и ингибиторов NO-синтазы млекопитающих на продукцию оксида азота клетками *L. plantarum*. С помощью техники атомно-силовой микроскопии (АСМ), а также избирательного флуоресцентного окрашивания бактерий с различной жизнеспособностью оценено влияние синтеза NO на морфо-физиологическое состояние лактобацилл.

Представленные результаты являются первыми свидетельствами наличия у кишечных лактобацилл специфического пути биосинтеза оксида азота и открывают перспективы направленного исследования биологической роли NO как у продуцентов, так и у организмов человека и животных.

Авторы выражают благодарность К. Бойерляйну (Институт фармакологии им. Рудольфа Буххайма, г. Гиссен, Германия) за помощь в проведении флуоресцентной микроскопии. Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 09-04-97032), ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», программы РНП 2.1.1/920, ГК 02.740.11.0391.

## АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

Авдеева Л.В.	124	Великов В.А.	117
Аверчева О.В.	34, 39	Веселова М.А.	104
Агеева М.В.	49, 90	Ветчинкина Е.П.	22, 98
Алексеев А.Л.	88	Видяшева И.В.	42
Аленькина С.А.	119	Винников Н.Т.	143
Алехина И.А.	23	Вишнякова М.А.	7
Алешкевич И.И.	18	Войтенко Л.В.	43
Андронов Е.Е.	28	Волкогон В.В.	8
Антонюк Л.П.	6, 54	Волохина И.В.	117
Асафова Е.В.	55	Воронкович Н.В.	61
Бабак О.Г.	101	Воропай А.В.	43
Бажанов Д.П.	101	Высочина Г.И.	68
Бажанова А.А.	101	Гарипова С.Р.	62
Баймиев А.Х.	21, 31	Гарифуллина Д.В.	100
Баймиев Ал.Х.	29	Герасимова И.С.	44
Баймиев Ан.Х.	29	Гесслер Н.Н.	52
Балко А.Б.	124	Гетьман Е.И.	141
Баранская М.И.	35	Гоголев Ю.В.	9, 45, 49, 53, 90, 129, 131
Барейко А.А.	19	Гоголева Н.Е.	9, 45, 49, 129, 131
Баштанова У.Б.	58	Гончарова И.А.	61
Баязитова А.А.	36	Горбатов А.А.	134
Белимов А.А.	7, 95	Горина С.С.	45
Белозерская Т.А.	52	Горшков В.Ю.	9, 49, 90, 129, 131
Белоногова Н.В.	37	Горяева Н.А.	136
Беляков А.Е.	110	Граскова И.А.	88
Благова Д.К.	21	Гречкин А.Н.	45, 53
Блинков Е.А.	111	Григориади А.С.	46
Богатырев В.А.	66	Григорьева Т.В.	47
Бойко А.С.	38, 76, 96	Гринев В.С.	59
Борисов А.Ю.	114	Гришина О.А.	114
Бородкин О.И.	20	Грязева И.В.	48
Буглак А.А.	74	Гулий О.И.	42, 97
Булат С.А.	23	Гуляев П.Е.	36
Буров А.М.	134	Гусев Ю.С.	113
Бурьгин Г.Л.	30, 89, 91, 110, 135, 145	Гюнтер Е.А.	115
Бурьянов Я.И.	60	Давыдова М.Н.	118
Бушманова О.В.	37, 125	Давыдова О.К.	48
Быкова Е.А.	34, 39	Даминова А.Г.	9, 49, 90
Валиулина А.Ф.	92	Демкина Е.В.	128
Варшаломидзе О.Э.	40	Дербенева В.В.	50
Васильченко А.С.	41		
Веденичева Н.П.	43		

Дерябин Д.Г.	10	Каюмов А.Р.	81
Дмитриенко В.В.	91	Кильчевский А.В.	101
Долинская Е.В.	92	Коваленко Э.А.	141
Дыкман Л.А.	42, 143	Ковтунов Е.А.	24
Дыкман Р.Л.	126	Козлова А.В.	144
Дядькина А.С.	136	Коннова С.А.	11, 38, 76, 96, 121, 137
Евсеева Н.В.	91	Константинова С.В.	58
Евтушенко Я.Ю.	66	Копылов Е.П.	56
Егоренкова И.В.	106, 137	Кормильцева И.П.	57, 75
Егоров М.А.	82	Котова К.Н.	25
Егоров Ц.А.	67	Кочетова Г.В.	58
Егорова А.М.	51	Кочубей Т.А.	141
Егорова А.С.	52	Красов А.И.	127
Ермилова В.С.	53	Кругова Е.Д.	122
Жардецкий С.С.	84	Крылова В.В.	94
Жернаков А.И.	114	Крючкова Е.В.	59
Жмурко В.В.	93	Кряжевских Н.А.	128
Жорняк Ю.В.	93	Кудрявцева Д.Н.	37
Жуков В.А.	12, 114	Кузнецова Е.В.	114
Зайцев Б.Д.	144	Кузнецова И.Е.	144
Зайцева Ю.В.	104	Кукишева А.А.	26
Зартдинова Р.Ф.	94	Купряшина М.А.	116
Захарова Н.Б.	134	Куриненко Б.М.	57, 75
Захарова Н.Г.	57	Ладутько Е.И.	27
Захарченко А.В.	60	Ларионова В.А.	119
Захарченко Н.С.	60	Лебедева А.А.	60
Зиновкина Н.Ю.	7, 95	Лощинина Е.А.	98
Золотарева Е.К.	73	Луговнёва А.П.	61
Ибрагимова В.Р.	125	Лукьянцев М.А.	99
Иванова А.Е.	52	Лутченко В.А.	138
Игнатов В.В.	76, 83, 96, 106, 121, 137	Любунь Е.В.	44
Игнатов О.В.	42, 97	Макаров О.Е.	59
Измайлов С.Ф.	94, 102	Мамонтова Е.М.	117
Ильинская О.Н.	146	Мандровская Н.М.	122
Ильчукова А.В.	54	Манучарова Н.А.	128
Камнев А.А.	126	Маракаев О.А.	120
Каневский М.В.	96	Маргулис А.Б.	36, 37, 64, 125
Кантерова А.В.	18	Маркова О.В.	62, 100
Капустина О.М.	115	Маркова Ю.А.	88
Караваева О.А.	97	Мартынова А.Ю.	139
Карлов Д.С.	23	Матенькова Е.А.	63
Карпова И.С.	141	Матора Л.Ю.	91, 107, 110, 127
Картунова Ю.Е.	55	Медведева Е.С.	118
Кацы Е.И.	24, 40, 107		

Митько В.Е.	64	Самойлова З.Ю.	68
Михайлова К.А.	55	Сандрия М.	84
Мусатенко Л.И.	43	Сафронова В.И.	68, 95
Мухамедова Л.Н.	129	Сащук Е.В.	141
Мухитова Ф.К.	53	Свиридова Т.Г.	142
Назарова Л.С.	103	Селиванов Н.Ю.	22, 110, 116
Наконечная О.И.	119	Семенов А.В.	130
Наплекова Н.Н.	25, 26, 63	Семенова Е.В.	68
Насонов А.И.	65, 66	Серяпин В.О.	69
Некрашевич Н.А.	101	Сигида Е.Н.	121
Неманкин Т.А.	114	Сидоренко А.В.	19, 70
Нестерова Т.Н.	118	Сидоренко Е.С.	71
Никитин А.В.	102	Синькевич М.С.	72
Никитин Д.Н.	27	Смирнова Г.В.	68
Никитина В.Е.	98, 116, 119, 144	Смоленцева О.А.	146
Никиян А.Н.	41	Смолькина О.Н.	83, 89
Новик Г.И.	18, 19, 27, 70	Соболева Е.Ф.	6
Овчинникова Е.С.	114	Сорокина Ю.В.	49, 131
Октябрьский О.Н.	68	Староверов С.А.	42, 143
Омеличкина Ю.В.	88	Старосила Д.Б.	141
Осипов Г.А.	120	Степанов С.С.	73
Осипова Е.В.	53	Стриж И.Г.	74
Панкратов А.Н.	69, 58, 144	Субботина А.В.	75
Первушина К.А.	120	Сулима А.С.	114
Першина Е.В.	28	Суркина А.К.	38, 76
Петрова Л.П.	24, 40	Суханова Е.И.	79
Петрова О.Е.	49, 90, 129, 131	Сытников Д.М.	122
Петрова С.Н.	28	Таранов Е.А.	34, 39
Пинаев А.Г.	28	Тарасова Н.Б.	129
Плотников В.К.	65, 66	Титов В.С.	114
Плюта В.А.	104	Тихонович И.А.	12, 114
Подгорский В.С.	141	Толмачева А.А.	105
Позднякова И.Г.	103	Томашевская М.А.	77
Пономарева А.А.	118	Трегуб А.С.	78
Попова А.А.	104	Трегубова К.В.	106, 137
Птицын К.Г.	29	Тренделева Т.А.	79
Птушенко В.В.	34, 39	Тугарова А.В.	54
Пылаев Т.Е.	66	Турковская О.В.	78
Радциг М.А.	104	Ульянова В.В.	80
Рогожин Е.А.	67	Учаева И.М.	50, 69, 85
Романенко А.С.	88	Федоненко Ю.П.	89, 121
Романенко Н.А.	140	Федоров Е.Е.	59
Рыбалко С.Л.	141	Федорова К.П.	81
Рычагова Т.С.	114	Филипьева Ю.А.	30
		Фомин А.С.	143

Фомина А.А.	137	Чхенкели В.А.	136, 139
Хайруллин Р.М.	99	Шарифуллина Е.З.	46
Халитова Л.Х.	31	Шафикова Т.Н.	88
Харитонашвили Е.В.	71	Шелудько А.В.	24, 40, 107
Хилинская Я.В.	64	Шеховцова Н.В.	120
Хлебцов Б.Н.	89	Широков А.А.	107, 134
Хлебцов Н.Г.	66, 135	Шихабудинов А.М.	144
Холмогоров С.В.	120	Шишонкова Н.С.	83
Храмцова Е.А.	84	Штыков С.Н.	85
Хусаинов И.Ш.	131	Шувалова Э.В.	145
Цивилева О.М.	50, 69, 85, 144	Шульга А.О.	84
Чайковская Л.А.	35	Щеголев С.Ю.	89, 91, 107, 110
Чан Минь Куан	82	Эль-Регистан Г.И.	54, 128
Чепурнова М.А.	60	Юрасов Н.А.	85
Чернов В.М.	118	Яковлева В.Г.	51
Чернова О.А.	118	Яковлева Г.Ю.	57, 75
Чернышова М.П.	59	Яруллина Д.Р.	146
Чечеткин И.Р.	45, 53	Bullitta S.	7
Чувочина М.С.	23	Piluzza G.	7
Чумаков М.И.	15, 113, 117		

## УКАЗАТЕЛЬ ОРГАНИЗАЦИЙ

### Итальянская Республика

ISPAAM-CNR-u.t. Sassari, 07041 Li Punti-Sassari ..... 7

### Россия

Астраханский государственный университет, Астрахань ..... 82

Башкирский государственный аграрный университет, Уфа ..... 99

Башкирский государственный университет, Уфа ..... 46, 62, 100, 112

Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства  
им. Н.И. Вавилова Россельхозакадемии, Санкт-Петербург ..... 7

Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной микробиологии  
Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Пушкин ..... 7, 12, 28, 95, 114

Всероссийский ордена Трудового Красного Знамени  
научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара  
им. А.Л. Мазлумова Россельхозакадемии, Воронежская область ..... 20

Институт биоорганической химии  
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва ..... 67

Институт биохимии и генетики  
Уфимского научного центра РАН, Уфа ..... 21, 29, 31

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов  
им. Г.К. Скрябина РАН, Пущино ..... 77

Институт биохимии и физиологии растений и  
микроорганизмов РАН, Саратов ..... 6, 11, 13, 15, 22, 24, 30, 38, 40,  
42, 44, 50, 54, 59, 66, 69, 76, 78, 83, 85, 89, 91,  
96, 97, 98, 106, 107, 110, 113, 116, 117, 119,  
121, 126, 127, 134, 135, 137, 143, 144, 145

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва ..... 52, 79

Институт клеточного и внутриклеточного  
симбиоза УрО РАН, Оренбург ..... 130

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва ..... 54, 128

Институт молекулярной генетики РАН, Москва ..... 104

Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар ..... 115

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии СФУ, Красноярск ..... 92

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь .....	68
Иркутская государственная сельскохозяйственная академия, Иркутск .....	136
Иркутский филиал Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО Россельхозакадемии, Иркутск .....	139
Казанский государственный университет им. В.И.Ульянова-Ленина, Казань .....	36, 37, 47, 55, 57, 64, 75, 80, 81, 125, 131, 146
Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань .....	9, 45, 49, 51, 53, 90, 118, 129, 131
Краснодарский ордена Ленина и ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. П. П. Лукьяненко Россельхозакадемии, Краснодар .....	65, 66
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва .....	34, 39, 52, 58, 71, 74
Научный Центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН, Москва .....	120
Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск .....	25, 26, 63
Оренбургский государственный университет, Оренбург .....	10, 41, 48, 105, 140, 142
Орловский аграрный университет, Орел .....	28
Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН, Гатчина .....	23
Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А.Тимирязева, Москва .....	72, 94, 102, 111
Саратовский государственный аграрный университет им Н.И. Вавилова, Саратов .....	103, 142
Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов .....	134
Саратовский государственный технический университет, Саратов .....	50, 69, 85
Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов .....	11, 30, 44, 50, 66, 69, 78, 85, 113, 117, 137, 144, 145
Саратовский филиал Института радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, Саратов .....	144
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск .....	88
Тульский государственный университет, Тула .....	60

Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино .....	60
Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, Новосибирск .....	68
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль .....	120

## **Республика Беларусь**

Белорусский государственный университет, Минск .....	84
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск .....	101
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск .....	18, 19, 27, 61, 70

## **Украина**

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины, Киев .....	43, 73, 122
Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев .....	124, 138, 141
Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев .....	141
Институт сельскохозяйственной микробиологии УААН Украины, Чернигов .....	8, 56
Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев .....	122
Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В. Громашевского АМН Украины, Киев .....	141
Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Харьков .....	93
Южная опытная станция Института сельскохозяйственной микробиологии УААН, Симферополь .....	35

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ</b> .....	5
Антонюк Л.П., Соболева Е.Ф. Коммуникация в растительно-бактериальных симбиозах: современное состояние и перспективы .....	6
Белимов А.А., Зиновкина Н.Ю., Сафронова В.И., Семенова Е.В., Вишнякова М.А., Piluzza G., Bullitta S. Проблемы использования симбиотических растительно-микробных систем для биоремедиации загрязненных металлами почв .....	7
Волкогон В.В. Особенности процессов биологической трансформации азота в корневой зоне культурных растений под влиянием биологических и абиогенных факторов .....	8
Гоголев Ю.В., Гоголева Н.Е., Горшков В.Ю., Даминова А.Г. Регуляция экспрессии гена АГЛ-синтазы <i>Erwinia carotovora atroseptica</i> антисмысловыми транскриптами гена <i>expR</i> .....	9
Дерябин Д.Г. Использование феномена бактериальной биолюминесценции для оценки биологической активности бактерицидных и бактериорегуляторных факторов .....	10
Коннова С.А. Микробные гликополимеры в растительно-бактериальных взаимодействиях на модели свободноживущих ризобактерий рода <i>Azospirillum</i> .....	11
Тихонович И.А., Жуков В.А. Микробно-растительный сигналинг и специфичность взаимодействия .....	12
Хлебцов Н.Г. Нанобиотехнология и нанобезопасность частиц с плазмонным резонансом .....	13
Чумаков М.И. <i>Rhizobium</i> и растения: две стратегии взаимодействия .....	15
<b>СЕКЦИЯ 1</b>	
<b>Биоразнообразие микробных сообществ и их функционирование</b> .....	17
Алешкевич И.И., Кантерова А.В., Новик Г.И. Методы длительной консервации дереворазрушающих грибов, выделенных из природных источников .....	18
Барейко А.А., Сидоренко А.В., Новик Г.И. Плазмидные профили лактококков из белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов .....	19
Бородкин О.И. Формирование сообщества микромицетов в почве парового звена зерносвекловичного севооборота .....	20
Благова Д.К., Баймиев А.Х. Плазмидный состав штаммов клубеньковых бактерий, нодулирующих чину весеннюю <i>Lathyrus vernus</i> (L.) Bernh .....	21

Ветчинкина Е.П., Селиванов Н.Ю., Никитина В.Е. Характеристика белков, специфичных для генеративных стадий развития ксилотрофного базидиомицета <i>Lentinus edodes</i> (Berk.) Sing .....	22
Карлов Д.С., Чувочина М.С., Алехина И.А., Булат С.А. Структурные и функциональные особенности микробного сообщества водной колонки озера Радок, Восточная Антарктида .....	23
Ковтунов Е.А., Петрова Л.П., Шелудько А.В., Кацы Е.И. Получение мутантов ассоциативных бактерий <i>Azospirillum brasilense</i> с изменениями в социальном поведении .....	24
Котова К.Н., Наплекова Н.Н. Биоразнообразие микробных ассоциаций под растениями гречихи под действием биоудобрений .....	25
Кукишева А.А., Наплекова Н.Н. Биоразнообразие микроорганизмов, использующих минеральный и органический азот в дерново-подзолистой почве при длительном применении удобрений .....	26
Никитин Д.Н., Ладутько Е.И., Новик Г.И. Подбор оптимальных условий для хранения штамма <i>Acetobacter acetii</i> БИМ В-520 .....	27
Петрова С.Н., Андронов Е.Е., Першина Е.В., Пинаев А.Г. Динамика сообщества почвенных микроорганизмов в ответ на засоление .....	28
Птицын К.Г., Баймиев Ан.Х., Баймиев Ал.Х. Генетическая гетерогенность и филогения клубеньковых бактерий, вступающих в симбиоз с дикорастущими растениями рода чина ( <i>Lathyrus</i> ), произрастающими на территории республики Башкортостан .....	29
Филиппьева Ю.А., Бурьгин Г.Л., Матора Л.Ю. Стимуляция роста пшеницы при инокуляции штаммами азоспирилл различных серотипов .....	30
Халитова Л.Х., Баймиев А.Х. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей некоторых симбиотических генов штаммов клубеньковых бактерий, нодулирующих чину весеннюю <i>Lathyrus vernus</i> (L.) Bernh .....	31

## **СЕКЦИЯ 2**

<b>Адаптация микроорганизмов и растений к действию биотических и абиотических факторов окружающей среды .....</b>	<b>33</b>
Аверчева О.В., Птушенко В.В., Таранов Е.А., Быкова Е.А. Действие узкополосного освещения на фотосинтетический аппарат и продуктивность растений салата .....	34
Баранская М.И., Чайковская Л.А. Исследование адаптивных реакций бактерии <i>Enterobacter nimipressuralis</i> 32-3 к стрессовому действию протравителей семян .....	35
Баязитова А.А., Гуляев П.Е., Маргулис А.Б. Генотоксическая активность метаболитов микоплазм .....	36

Белоногова Н.В., Кудрявцева Д.Н., Бушманова О.В., Маргулис А.Б. Роль гомосеринлактона в ответе стафилококка на стресс .....	37
Бойко А.С., Суркина А.К., Коннова С.А., Федоненко Ю.П., Игнатов В.В. Влияние условий роста бактерий <i>Azospirillum lipoferum</i> Sp59b на строение их липополисахаридов .....	38
Быкова Е.А., Таранов Е.А., Аверчева О.В., Птушенко В.В. Ростовые параметры растений салата-латука, выращенных при освещении узкополосными источниками освещения .....	39
Варшаломидзе О.Э., Шелудько А.В., Петрова Л.П., Кацы Е.И. Влияние плазмидных перестроек на уровень устойчивости ассоциативных бактерий <i>Azospirillum brasilense</i> к солям тяжелых металлов .....	40
Васильченко А.С., Никиян А.Н. Использование атомно-силовой микроскопии для оценки реакции бактерий на различные воздействия .....	41
Видяшева И.В., Староверов С.А., Гулий О.И., Игнатов О.В., Дыкман Л.А. Получение фаговых антител к поверхностным антигенам азоспирилл .....	42
Веденичева Н.П., Войтенко Л.В., Воропай А.В., Мусатенко Л.И. Изменение содержания компонентов фитогормонального комплекса в листьях <i>Mesembryanthemum crystallinum</i> L. под действием засоления .....	43
Герасимова И.С., Любунь Е.В. Влияние солей тяжелых металлов на содержание фотосинтетических пигментов в листьях сельскохозяйственных растений .....	44
Горина С.С., Гоголева Н.Е., Гоголев Ю.В., Чечеткин И.Р., Гречкин А.Н. Клонирование гена дивинилэфирсинтазы льна-долгунца ( <i>Linum usitatissimum</i> ) .....	45
Григориади А.С., Шарифуллина Е.З. Использование дягиля лекарственного ( <i>Archangelica officinalis</i> ) для фиторемедиации нефтезагрязненных почв .....	46
Григорьева Т.В. Роль азотфиксирующих микроорганизмов в фиторемедиации углеводородсодержащих осадков .....	47
Давыдова О.К., Грязева И.В. Эффекты алкилоксибензолов на устойчивость ДНК к ультрафиолетовому облучению в молекулярных и клеточных системах .....	48
Даминова А.Г., Горшков В.Ю., Агеева М.В., Петрова О.Е., Гоголева Н.Е., Сорокина Ю.В., Гоголев Ю.В. Ультроструктурные изменения клеток <i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>atroseptica</i> SCRI1043 в условиях голодания .....	49
Дербенева В.В., Цивилева О.М., Панкратов А.Н., Учаева И.М. Продукция олеиновой и линолевой кислот культурой гриба шиитаке .....	50
Егорова А.М., Яковлева В.Г. Протеомные исследования салицилат-индуцируемых изменений в растениях гороха .....	51
Егорова А.С., Иванова А.Е., Белозерская Т.А., Гесслер Н.Н. Адаптация штаммов вида <i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson к радиоактивному	

загрязнению среды обитания .....	52
Ермилова В.С., Осипова Е.В., Чечеткин И.Р., Мухитова Ф.К., Гоголев Ю.В., Гречкин А.Н. Направленное изменение каталитических свойств фермента дивинилэфирсинтазы табака ( <i>Nicotiana tabacum</i> ) методом сайт-специфичного мутагенеза .....	53
Ильчукова А.В., Тугарова А.В., Эль-Регистан Г.И., Антонюк Л.П. Алкилрезорцины являются регуляторами физиологического состояния бактерий рода <i>Azospirillum</i> .....	54
Картунова Ю.Е., Михайлова К.А., Асафова Е.В. Влияние <i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i> на антиоксидантную активность в растениях .....	55
Копылов Е.П. Влияние почвенного сапрофитного гриба <i>Chaetomium</i> <i>cochliodes palliser</i> на стойкость растений яровой пшеницы к возбудителям корневых гнилей .....	56
Кормильцева И.П., Яковлева Г.Ю., Захарова Н.Г., Куриненко Б.М. Реакция микромицетов чернозема выщелоченного на загрязнение 2,4,6-тринитротолуолом .....	57
Кочетова Г.В., Константинова С.В., Баштанова У.Б. Фоторегуляция ритмов устьичных движений на естественном фотопериоде .....	58
Крючкова Е.В., Чернышова М.П., Гринев В.С., Макаров О.Е., Федоров Е.Е. Определение пути деградации глифосата у бактерий <i>Acinetobacter</i> sp. K7 .....	59
Лебедева А.А., Захарченко А.В., Чепурнова М.А., Захарченко Н.С., Бурьянов Я.И. Колонизация растений ассоциативными микроорганизмами <i>in vitro</i> повышает устойчивость растений к биотическим и абиотическим факторам окружающей среды .....	60
Луговнёва А.П., Воронкович Н.В., Гончарова И.А. Влияние кислотности среды на фунгицидную активность бензалкониум хлорида .....	61
Маркова О.В., Гарипова С.Р. Влияние абиотических факторов и бактериальных ассоциаций на продуктивность <i>Phaseolus vulgaris</i> L. ....	62
Матенькова Е.А., Наплекова Н.Н. Адаптация микроорганизмов к нефтяному загрязнению .....	63
Митько В.Е., Хилинская Я.В., Маргулис А.Б. Генотоксические свойства почв национального парка «Нижняя Кама» .....	64
Насонов А.И., Плотников В.К. Дифференциальная стабильность препарата рибосомной РНК из проростков ярового и зимующего гороха при хранении в жидком азоте .....	65
Пылаев Т.Е., Евтушенко Я.Ю., Насонов А.И., Плотников В.К., Богатырев В.А., Хлебцов Н.Г. Корреляция значения «золотого числа» долгоживущей РНК из зрелого зерна злаковых и бобовых растений с морозостойкостью сорта .....	66
Рогожин Е.А., Егоров Ц.А. Антимикробные белки и пептиды – важнейшие	

факторы врожденного иммунитета растений .....	67
Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Высочина Г.И., Октябрьский О.Н. Влияние экстрактов лекарственных растений на адаптацию бактерий <i>Escherichia coli</i> к пероксидному стрессу .....	68
Серяпин В.О., Панкратов А.Н., Цивилева О.М., Учаева И.М. Характеристика метаболизма двух фосфонатов базидиальной культурой с позиций теоретической химии .....	69
Сидоренко А.В., Новик Г.И. Получение антибиотикоустойчивых культур бифидобактерий и характеристика их свойств .....	70
Сидоренко Е.С., Харитонашвили Е.В. Нитрат как сигнал для роста бокового корня .....	71
Синькевич М.С. Динамика активности антиоксидантных ферментов при адаптации растений картофеля, выращенных в культуре <i>in vitro</i> .....	72
Степанов С.С., Золотарева Е.К. Влияние экзогенного метанола на фотосинтетическую продуктивность одноклеточных зеленых водорослей .....	73
Стриж И.Г., Буглак А.А. Изменение роста и развития первичного корня <i>Arabidopsis</i> под воздействием абиотических факторов .....	74
Субботина А.В., Яковлева Г.Ю., Кормильцева И.П., Куриненко Б.М. Активация антиоксидантных генов <i>Escherichia coli</i> под воздействием 2,4,6-тринитротолуола .....	75
Суркина А.К., Бойко А.С., Коннова С.А., Игнатов В.В. Сравнительная характеристика полисахаридов капсулы бактерий <i>Azospirillum lipoferum</i> Sp59b, выращенных на разных средах .....	76
Томашевская М.А. Ассимиляционная активность дрожжей хвойного опада .....	77
Трегуб А.С., Турковская О.В. Влияние полициклических ароматических углеводородов на эндоферменты элодеи канадской .....	78
Тренделева Т.А., Суханова Е.И. Действие на дрожжевые митохондрии SkQ (производных пластохинона, соединенных с липофильным катионом) .....	79
Ульянова В.В. Барназа и бактериальный «апоптоз» .....	80
Федорова К.П., Каюмов А.Р. Поведение белков TnrA, GlnK, GS в клетках <i>Vacillus subtilis</i> в условиях азотного голодания .....	81
Чан Минь Куан, Егоров М.А. Влияние ионов серебра и железа в сочетании с суспензией клубеньковых клеток на прорастание семян гороха .....	82
Шишонкова Н.С., Смолькина О.Н., Игнатов В.В. Характеристика капсульного полисахарида бактерий <i>Herbaspirillum seropedicae</i> Z78 .....	83
Шульга А.О., Сандрия М., Жардецкий С.С., Храмцова Е.А. Влияние бактериальной АЦК-дезаминазы на повышение устойчивости растений к засолению почвы в лабораторных и производственных условиях .....	84

Юрасов Н.А., Цивилева О.М., Панкратов А.Н., Учаева И.М., Штыков С.Н. Трансформация индола глубинной культурой шиитаке .....	85
--	----

### СЕКЦИЯ 3

<b>Механизмы взаимодействия партнеров в симбиозах и ассоциациях .....</b>	<b>87</b>
---	-----------

Алексеенко А.Л., Маркова Ю.А., Омеличкина Ю.В., Граскова И.А., Шафикова Т.Н., Романенко А.С. Особенности взаимодействия условно-патогенной <i>Escherichia coli</i> с растениями .....	88
---	----

Бурыгин Г.Л., Смолькина О.Н., Федоненко Ю.П., Хлебцов Б.Н., Щеголев С.Ю. Изучение надмолекулярной структуры липополисахаридов бактерий рода <i>Azospirillum</i> в водных средах .....	89
---	----

Горшков В.Ю., Даминова А.Г., Агеева М.В., Петрова О.Е., Гоголев Ю.В. Формирование различных бактериальных морфотипов при развитии бактериозов растений .....	90
--	----

Дмитриенко В.В., Бурыгин Г.Л., Евсеева Н.В., Матора Л.Ю., Щеголев С.Ю. Влияние липополисахаридов бактерий рода <i>Azospirillum</i> на функциональную активность меристематических клеток корней пшеницы .....	91
---	----

Долинская Е.В., Валиулина А.Ф. Участие микроорганизмов в регуляции ростовых процессов растений .....	92
---	----

Жорняк Ю.В., Жмурко В.В. Эффекты генов фотопериодической чувствительности сои на хемотаксическую и ростовую реакцию <i>Bradyrhizobium japonicum</i> .....	93
---	----

Зартдинова Р.Ф., Крылова В.В., Измайлов С.Ф. Ca <sup>+</sup> -транспортеры симбиосомной мембраны бобов: Ca <sup>+</sup> -атфаза и Ca <sup>+</sup> -канал .....	94
---	----

Зиновкина Н.Ю., Белимов А.А., Сафронова В.И. Поиск генов АЦК деаминазы у клубеньковых бактерий .....	95
---	----

Каневский М.В., Коннова С.А., Бойко А.С., Игнатов В.В. Влияние кверцетина и нарингенина на макромолекулярную организацию липополисахарида бактерий <i>Azospirillum lipoferum</i> Sp59b .....	96
--	----

Караваева О.А., Гулий О.И., Игнатов О.В. Определение устойчивости микробных клеток по отношению к бактериофагам с помощью метода электрооптического анализа клеточных суспензий .....	97
---	----

Лощина Е.А., Ветчинкина Е.П., Никитина В.Е. Белковый состав мицелия и среды культивирования при совместном выращивании <i>Lentinus edodes</i> и <i>Azospirillum brasilense</i> .....	98
--	----

Лукьянцев М.А., Хайруллин Р.М. Влияние эндофитных антагонистических штаммов <i>Bacillus subtilis</i> на некоторые виды бактерий .....	99
--	----

Маркова О.В., Гарипова С.Р. Анализ механизмов комплексной биологической активности штаммов эндофитных бактерий, выделенных	
---	--

из растений фасоли .....	100
Некрашевич Н.А., Бабак О.Г., Бажанов Д.П., Бажанова А.А., Кильчевский А.В. Наследование хозяйственно ценных признаков у коллекционных образцов и гибридов F1 томата при взаимодействии со штаммом <i>Burkholderia</i> sp. 418 .....	101
Никитин А.В., Измайлов С.Ф. Возможная природа разнонаправленного действия нитрата и аммония на сахарозосинтазу корней и клубеньков бобовых .....	102
Позднякова И.Г., Назарова Л.С. Межпопуляционные отношения в микробиоценозах ветеринарного госпиталя .....	103
Радциг М.А., Зайцева Ю.В., Веселова М.А., Плюта В.А., Попова А.А. Формирование биопленок при действии на бактерии соединений серебра (ионы, наночастицы), растительных фенолов и нитрофуранов .....	104
Толмачева А.А. Поиск потенциальных ингибиторов «чувства кворума» растительного происхождения в тестах ингибирования биосинтеза пигмента виолацеина .....	105
Трегубова К.В., Егоренкова И.В., Игнатов В.В. Физико-химическая характеристика и свойства внеклеточных полисахаридов почвенных азотфиксирующих бактерий <i>Paenibacillus polymyxa</i> .....	106
Широков А.А., Шелудько А.В., Кацы Е.И., Щеголев С.Ю., Матора Л.Ю. Поверхностные белки бактерий рода <i>Azospirillum</i> , участвующие в реализации коллективной подвижности .....	107

#### **СЕКЦИЯ 4**

<b>Растительно-микробные симбиозы: метаболическая и генетическая интеграция организмов .....</b>	<b>109</b>
Беляков А.Е., Селиванов Н.Ю., Бурьгин Г.Л., Матора Л.Ю., Щеголев С.Ю. Структура и иммунохимические свойства гликозилированного флагеллина полярного жгутика бактерий <i>Azospirillum brasilense</i> .....	110
Блинков Е.А. Ассоциативный симбиоз diaзотрофных бактерий и растений огурца как способ адаптации к действию абиотических факторов окружающей среды .....	111
Гарифуллина Д.В. Сравнение свойств штаммов <i>Enterobacter</i> sp. Ч16 и трансформированного pRL gfp <i>Enterobacter</i> sp. Ч16-gfp при инокуляции <i>Pisum sativum</i> L. в полевых условиях .....	112
Гусев Ю.С., Чумаков М.И. Моделирование образования пор из белка VirE2 в мембране .....	113
Жуков В.А., Неманкин Т.А., Овчинникова Е.С., Жернаков А.И., Титов В.С., Гришина О.А., Сулима А.С., Рычагова Т.С., Кузнецова Е.В., Борисов А.Ю., Тихонович И.А. Генетическое картирование симбиотических генов гороха	

посевного ( <i>Pisum sativum</i> L.) с использованием ген-специфичных молекулярных маркеров .....	114
Капустина О.М., Гюнтер Е.А. Каллусная культура смолевки обыкновенной как модельный объект для изучения взаимодействия растений и фитопатогенных грибов .....	115
Купряшина М.А., Селиванов Н.Ю., Никитина В.Е. Mn-пероксидаза <i>Azospirillum brasilense</i> : выделение и очистка .....	116
Мамонтова Е.М., Великов В.А., Волохина И.В., Чумаков М.И. Получение трансгенных растений кукурузы, несущих ген рибонуклеазы <i>Zinnia elegans</i> .....	117
Медведева Е.С., Давыдова М.Н., Нестерова Т.Н., Пономарева А.А., Чернова О.А., Чернов В.М. Взаимодействие <i>Acholeplasma laidlawii</i> PG8 и <i>Oryza sativa</i> L.: особенности экспрессии белков растений в ответ на ВФ и УМФ микоплазмы .....	118
Наконечная О.И., Аленькина С.А., Ларионова В.А., Никитина В.Е. Образование активных форм кислорода в корнях проростков пшеницы под влиянием лектинов азоспирилл .....	119
Первушина К.А., Холмогоров С.В., Шеховцова Н.В., Маракаев О.А., Осипов Г.А. Микробоценозы прикорневой зоны <i>Dactylorhiza maculata</i> L. (Soo) ( <i>Orchidaceae</i> ) .....	120
Сигида Е.Н., Федоненко Ю.П., Коннова С.А., Игнатов В.В. Особенности строения липидов А липополисахаридов производных штаммов <i>Azospirillum brasilense</i> Sp245 и Sp7 .....	121
Сытников Д.М., Кругова Е.Д., Мандровская Н.М. Изучение влияния лектина растения-хозяина на рост, метаболизм и симбиотические свойства клубеньковых бактерий сои .....	122
<b>СЕКЦИЯ 5</b>	
<b>Микробная коммуникация и ее роль во взаимодействии с макроорганизмом-хозяином .....</b>	<b>123</b>
Балко А.Б., Авдеева Л.В. Особенности формирования и деградации биопленки <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	124
Бушманова О.В., Ибрагимова В.Р., Маргулис А.Б. Анализ генетических детерминант биосинтеза регуляторных производных гомосеринлактона у бактерий .....	125
Дыкман Р.Л., Камнев А.А. Окислительная деградация микробных ауторегуляторов: роль абиотических факторов в молекулярном сигналинге .....	126
Красов А.И., Матора Л.Ю. Выявление почвенных ассоциативных бактерий рода <i>Azospirillum in situ</i> с помощью иммуноферментного анализа .....	127

Кряжевских Н.А., Демкина Е.В., Манучарова Н.А., Эль-Регистан Г.И. Реактивация бактериальных сообществ из почв и древних подпочвенных отложений .....	128
Мухамедова Л.Н., Горшков В.Ю., Тарасова Н.Б., Петрова О.Е., Гоголева Н.Е., Гоголев Ю.В. Выявление метаболитов растений, активирующих систему кворума <i>Pectobacterium atrosepticum</i> SCRI1043 .....	129
Семенов А.В. Влияние ассоциативных микроорганизмов на антагонистическую активность бактерий .....	130
Хусаинов И.Ш., Горшков В.Ю., Петрова О.Е., Сорокина Ю.В., Гоголева Н.Е., Гоголев Ю.В. Межклеточная коммуникация при формировании адаптивного ответа <i>Pectobacterium atrosepticum</i> SCRI1043 на голодание .....	131

## СЕКЦИЯ 6

<b>Микробные метаболиты и их влияние на организм человека и животных .....</b>	<b>133</b>
Буров А.М., Горбатов А.А., Широков А.А., Захарова Н.Б. Современный подход к проведению цито-гистологических и иммуногистохимических исследований в биологии и медицине .....	134
Бурыгин Г.Л., Хлебцов Н.Г. Получение конъюгатов антибиотиков с наночастицами золота и исследование их антимикробных свойств .....	135
Дядькина А.С., Чхенкели В.А., Горяева Н.А. Состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта собак в условиях содержания питомника .....	136
Егоренкова И.В., Трегубова К.В., Фомина А.А., Коннова С.А., Игнатов В.В. Особенности химического состава и цитокиновая активность экзополисахаридов бактерий <i>Paenibacillus polymyxa</i> 1465 .....	137
Лутченко В.А. Получение мутантов <i>Streptomyces globisporus</i> 1912 под действием нитрозогуанидина .....	138
Мартынова А.Ю., Чхенкели В.А. Профилактическая активность препарата на основе гриба-ксилотрофа <i>Trametes pubescens</i> (Shumach.:Fr.) Pilat .....	139
Романенко Н.А. Влияние алкилоксибензолов на функциональные характеристики антител .....	140
Сашук Е.В., Старосила Д.Б., Карпова И.С., Рыбалко С.Л., Коваленко Э.А., Кочубей Т.А., Гетьман Е.И., Подгорский В.С. Новые сиалоспецифичные лектины (из <i>Bacillus subtilis</i> и <i>Diospyros kaki</i> Th.): их особенности и антивирусная активность .....	141
Свиридова Т.Г. Влияние алкилоксибензолов и гомосеринлактонов на функциональные характеристики нейтрофилов .....	142
Фомин А.С., Староверов С.А., Винников Н.Т., Дыкман Л.А. Использование	

фаговой библиотеки для получения антител на ферритин .....	143
Шихабудинов А.М., Зайцев Б.Д., Цивилева О.М., Панкратов А.Н., Кузнецова И.Е., Козлова А.В., Никитина В.Е. Биосенсорные свойства пленок на основе изолятов гриба шиитаке при акустоэлектронном детектировании летучих соединений .....	144
Шувалова Э.В., Бурыгин Г.Л. Развитие иммунного ответа кроликов на фиксированные глутаровым альдегидом бактериальные клетки .....	145
Яруллина Д.Р., Смоленцева О.А., Ильинская О.Н. Но-синтазная активность лактобацилл как механизм их пробиотической активности .....	146
<b>АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ .....</b>	<b>147</b>
<b>УКАЗАТЕЛЬ ОРГАНИЗАЦИЙ .....</b>	<b>151</b>

Научное издание

**СТРАТЕГИЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ И РАСТЕНИЙ  
С ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДОЙ**

*Материалы V Межрегиональной конференции молодых ученых*  
28 сентября – 1 октября 2010 г.  
Саратов

Подписано в печать 10.09.2010. Формат 60×84 1/16. Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать RISO.  
Усл. п. л. 4,76. Тираж 150 экз. Заказ № .

ООО «Издательский Центр «Наука»»  
г. Саратов, ул. Пугачевская, д. 117, к. 50  
Отпечатано с готового оригинал-макета в ООО «Ракурс»,  
410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 79/85