

Включен в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней по специальностям:

03.02.01 Ботаника, 03.02.03 Микробиология, 03.02.04 Зоология, 03.02.07 Генетика, 03.02.08 Экология, 03.03.03 Иммунология, 14.03.09 Клиническая иммунология, аллергология, 14.03.10 Клиническая лабораторная диагностика

Учредитель: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

Включает как теоретические работы, так и статьи, содержащие результаты конкретных исследований по ботанике и физиологии растений, зоологии, ихтиологии и этологии, энтомологии и гидробиологии, генетике, биохимии, микробиологии, почвоведению, биотехнологии, медико-биологическим проблемам, экологии и охране природы, а также рецензии на некоторые публикации и персоналии. Все статьи прошли рецензирование.

Редакционный совет

В. С. Артамонова, д-р биол. наук, доцент, ведущий н. сотр., Ин-т почвоведения и агрохимии СО РАН, г. Новосибирск

А. В. Балущий, д-р биол. наук, ст. н. сотр., зав. лабораторией, ЗИН РАН, г. С.-Петербург

О. Г. Баранова, д-р биол. наук, профессор, ведущий н. сотр., БИН им. В.Л. Комарова РАН, г. С.-Петербург

В. Д. Богданов, д-р биол. наук, чл.-корр. РАН, зав. лабораторией, ИЭРиЖ УрО РАН, г. Екатеринбург

Э. А. Коркотян, канд. биол. наук, профессор, Лаборатория нейронной пластичности Научно-исследовательского ин-та им. Вейцмана, Реховот, Израиль

Н. Кристофи, профессор, Эдинбургский Нэпир университет, Шотландия, Великобритания

А. И. Литвиненко, д-р биол. наук, профессор, Государственный аграрный ун-т Северного Зауралья, г. Тюмень

В. П. Середина, д-р биол. наук, профессор, НИТГУ, г. Томск

Б. Ульссон, Ph D, ассоциированный профессор, лектор университета г. Сковде, Швеция

В. А. Черешнев, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор ИИФ УрО РАН, г. Екатеринбург

Редакционная коллегия

С. В. Боронникова, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой, ПГНИУ, г. Пермь

С. В. Гейн, д-р мед. наук, профессор, директор ИЭГМ УрО РАН, г. Пермь

О. З. Еремченко, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой, ПГНИУ, г. Пермь

С. Л. Есюнин, д-р биол. наук, доцент, зав. кафедрой, ПГНИУ, г. Пермь

Е. Г. Ефимик (секретарь редколлегии), канд. биол. наук, доцент, ПГНИУ, г. Пермь

В. А. Демаков, д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, директор ИЭГМ УрО РАН, г. Пермь

Н. В. Зайцева, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, ФГУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, г. Пермь

И. Б. Ившина, д-р биол. наук, профессор, академик РАН, зав. лабораторией ИЭГМ УрО РАН, г. Пермь

М. С. Куюкина, д-р биол. наук, ст. н. сотр., ИЭГМ УрО РАН, г. Пермь

Н. И. Литвиненко (гл. редактор), канд. биол. наук, профессор кафедры, ПГНИУ, г. Пермь

С. А. Овеснов, д-р биол. наук, профессор, ПГНИУ, г. Пермь

Н. Н. Паньков, канд. биол. наук, доцент, профессор кафедры, ПГНИУ, г. Пермь

О. Ю. Устинова, д-р мед. наук, зам. директора ФГУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, г. Пермь

Ответственный редактор

выпуска С. А. Овеснов

© Редакционная коллегия, 2021

Адрес учредителя и издателя:
614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15;
Тел.: 8 (342)2396435; E-mail: info@psu.ru
Подписной индекс в каталоге ОАО «Пресса России. Том 1.
Газеты и журналы»: 41000
Адрес редакции: 614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15;
Тел.: 8 (342)2396233
E-mail: vestnik_psu_bio@mail.ru
Сайт: press.psu.ru/index.php/bio

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свид. о регистрации средства масс. информации ПИ № ФС 77-66484 от 14 июля 2016 г.

Includes both theoretical works and articles containing results of species researches on botany and physiology of plants, ichthyology and ethology, entomology and hydrobiology, microbiology, genetics, biochemistry, soil science, biotechnology, medico-biologic problems, ecology and nature conservation, as well as reviews of some publications.

Editorial Board

V. S. Artamonova, Sc. D. in Biological Science, associate professor, leading researcher, Institute of Soil Science and Agrochemistry of the Siberian Branch of the RAS, Novosibirsk

A. V. Balushkin, Sc. D. in Biological Science, senior researcher, head of laboratory, Zoological Institute of the RAS, St. Petersburg

O. G. Baranova, Sc. D. in Biological Science, professor, leading researcher, Botanical Institute of the RAS, St. Petersburg

V. D. Bogdanov, Sc. D. in Biological Science, corresponding member of the RAS, head of laboratory, IPAE Ural Branch of the RAS, Ekaterinburg

V. A. Chereshnev, Sc. D. in Medical Science, professor, member of the RAS, head of IIP Ural Branch of the RAS, Ekaterinburg

N. Christofi, professor, Edinburgh Napier University, Scotland, Great Britain

V. A. Demakov, Sc. D. in Medical Science, professor, corresponding member of the RAS, head of IEGM Ural Branch of the RAS, Perm

E. A. Korkotyan, Ph D, professor, Laboratory of Neuronal Plasticity of Weizmann Institute of Science, Rehovot, Izrael

A. I. Litvinenko, Sc. D. in Biological Science, professor, State agrarian University of Northern TRANS-Urals, Tyumen

B. Olsson, Ph D, associate professor, senior lector of the University of Scovde, Sweden

V. P. Seredina, Sc. D. in Biological Science, professor, NITGU, Tomsk

Editors

S. V. Boronnikova, Sc. D. in Biological Science, professor, head of department, PSU, Perm

E. G. Efimik (secretary of the editorial board), Ph D in Biological Science, associate professor, PSU, Perm

O. Z. Eremchenko, Sc. D. in Biological Science, professor, head of department, PSU, Perm

S. L. Esyunin, Sc. D. in Biological Science, associate professor, head of department, PSU, Perm

V. A. Demakov, Sc. D. in Medical Science, professor, corresponding member of the RAS, head of IEGM Ural Branch of the RAS, Perm

S. V. Gein, Sc. D. in Medical Science, professor, head of IEGM Ural Branch of the RAS, Perm

I. B. Ivshina, Sc. D. in Biological Science, professor, member of the RAS, head of laboratory of IEGM Ural Branch of the RAS, Perm

M. S. Kuyukina, Sc. D. in Biological Science, senior researcher, IEGM Ural Branch of the RAS, Perm

N. I. Litvinenko (editor in chief), PhD in Biological Science, professor of the department, PSU, Perm

S. A. Ovesnov, Sc. D. in Biological Science, professor, PSU, Perm

N. N. Pankov, Ph D in Biological Science, associate professor, professor of the department, PSU, Perm

O. Yu. Ustinova, Sc. D. in Medical Science, deputy head of FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies", Perm

N. V. Zaitseva, Sc. D. in Medical Science, professor, member of the RAS, FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies", Perm

Contributed editor of the issue S. A. Ovesnov

Содержание

Микробиология

- Макимова Ю. Г., Быкова Я. Е.* Влияние многостенных углеродных нанотрубок на биопленкообразование *Escherichia coli* 87
- Назарова Э. А., Первова М. Г., Егорова Д. О.* Разнообразие культивируемых аэробных бактерий, выделенных из лндан-загрязненных почв 93
- Тунева Н. А., Богачева Н. В.* Сравнительная оценка микробной контаминации при пародонтите и перимплантите 101

Зоология

- Одинцев О. А., Одинцева А. А.* Птицы семейства трясогузковые на территории Омска и Омской области: видовое богатство, численность и распределение 110

Генетика

- Абд Али А. Х., Бочарова О. В., Шкурат Т. П., Шкурат М. А., Амелина М. А.* Взаимосвязь липопротеинлипазы *Ser447Ter* и полиморфизма *rs9939609* гена *FTO* с ожирением у детей и подростков в популяции Ростова-на-Дону 119

Экология

- Сивкова Т. Н., Четанов Н. А.* Динамика зараженности домашних кошек в г. Перми 128
- Чудинова Л. А., Юсупов Д. Р.* Влияние температурной предобработки на конститутивную и индуцибельную устойчивость проростков ржи к хлоридному засолению 134

Иммунология

- Сайдакова Е. В., Королевская Л. Б., Власова В. В.* Характер системного воспаления у ВИЧ/ВГС коинфицированных больных с дискордантным ответом на антиретровирусную терапию 141
- Правила оформления статей в Вестник Пермского университета. Серия Биология 147

Contents

Microbiology

- Maksimova Yu. G., Bykova Ya. E.* Effect of multi-walled carbon nanotubes on *Escherichia coli* biofilm formation 87
- Nazarova E. A., Pervova M. G., Egorova D. O.* Diversity of culturable aerobic bacteria isolated from lindane-contaminated soils 93
- Tuneva N. A., Bogacheva N. V.* Comparative evaluation of microbial contamination in and periodontitis and periimplantitis 101

Zoology

- Odintsev O. A., Odintseva A. A.* Birds of the family *Motacillidae* in Omsk and in the Omsk province: species richness, numbers and distribution 110

Genetics

- Abd Ali A. H., Bocharova O. V., Shkurat T. P., Shkurat M. A., Amelina M. A.* Association of *Ser447Ter* polymorphisms of the *LPL* gene and *rs9939609* of the *FTO* gene with obesity in children and adolescents in the Rostov-on-Don population 119

Ecology

- Sivkova T. N., Chetanov N. A.* Dynamics of parasitic infection in domestic cats in Perm city 128
- Chudinova L. A., Yusupov D. R.* Influence of temperature processing on the constitutive and inducible resistance of rye seedlings to chloride salinization 134

Immunology

- Saidakova E. V., Korolevskaya L. B., Vlasova V. V.* Systemic inflammation in HIV/HCV coinfecting patients with discordant response to antiretroviral therapy 141

МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 579.22

DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-87-92.

Ю. Г. Максимова^{a,b}, Я. Е. Быкова^b

^a "Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН" – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

^b Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

ВЛИЯНИЕ МНОГОСТЕННЫХ УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБОК НА БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ *Escherichia coli*

Исследовано влияние очищенных и неочищенных многостенных углеродных нанотрубок на процесс биопленкообразования штаммов *Escherichia coli*, выделенных из разных источников. Показано, что углеродные наноматериалы в среде культивирования не ингибируют биопленкообразование, а на 1–3 сут. роста приводят к формированию более массивных биопленок некоторых штаммов. Отмечено достоверно более интенсивное разрушение зрелых биопленок *E. coli* K12, *E. coli* K12 TG1 (pXen7) и одного природного штамма в присутствии углеродных нанотрубок в среде. Не обнаружено четкой зависимости биопленкообразования и разрушения сформированных биопленок от степени очистки нанотрубок.

Ключевые слова: биопленки; многостенные углеродные нанотрубки; *Escherichia coli*.

Yu. G. Maksimova^{a,b}, Ya. E. Bykova^b

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

^b Perm State University, Perm, Russian Federation

Effect of multi-walled carbon nanotubes on *Escherichia coli* biofilm formation

The effect of purified and unpurified multi-walled carbon nanotubes on the biofilm formation of *Escherichia coli* strains isolated from different sources has been studied. It has been shown that carbon nanomaterials in the culture medium do not inhibit biofilm formation, but on days 1–3 of growth lead to the formation of more massive biofilms of some strains. Significantly more intense destruction of mature biofilms of *E. coli* K12, *E. coli* K12 TG1 (pXen7) and one natural strain in the presence of carbon nanotubes in the medium was noted. No clear dependence of biofilm formation and destruction of formed biofilms on the degree of purification of nanotubes was found.

Key words: biofilms; multi-walled carbon nanotubes; *Escherichia coli*.

Введение

Углеродные нанотрубки являются аллотропной модификацией углерода и представляют собой полые цилиндрические структуры из одной или нескольких плоскостей графена. Интерес к углеродным наноматериалам связан с их уникальными физико-химическими свойствами: высокой электро- и теплопроводностью, механической прочностью, необычными магнитными свойствами, значительной удельной поверхностью [Aqel et al., 2012].

Данные структуры стали широко применяться в различных отраслях промышленности относительно недавно, при этом возник закономерный вопрос об их цитотоксичности. Ряд работ посвящен влиянию углеродных нанотрубок на бактерии, и в качестве модельного организма в большинстве исследова-

ований была выбрана *Escherichia coli*. Полученные результаты были неоднозначными и сильно зависели от характеристик нанотрубок, их концентрации и среды, в которой происходило взаимодействие. Так, было показано бактерицидное действие одностенных углеродных нанотрубок (ОУНТ) по отношению к *E. coli* K12, связанное с нарушением клеточной мембраны в результате прямого контакта с нанотрубками [Kang et al., 2007], а также изменение экспрессии стресс-зависимых генов [Kang et al., 2008]. Бактерицидное действие ОУНТ было показано и в других работах [Liu et al., 2010; Yang, 2010; Jackson et al., 2013]. В свою очередь, многостенные углеродные нанотрубки (МУНТ) были менее токсичны для бактерий [Kang et al., 2007; Jackson et al., 2013; Chi et al., 2016; Maas, 2016].

Однако в естественных условиях бактерии преимущественно существуют в виде биопленок, поэтому имеет смысл изучать воздействие различных факторов и веществ, в том числе и наноматериалов, не на планктонные клетки, а на биопленки. Известно, что в биопленке клетки менее чувствительны к действию углеродных нанотрубок, в основном за счет защитного действия полимерного матрикса [Rodrigues, Elimelech, 2010]. В ряде работ было показано, что антимикробные свойства нанотрубок предотвращают адгезию и биопленкообразование на таких поверхностях [Sun, Zhang, 2016; Teixeira-Santos et al., 2021], однако мертвые клетки могут экранировать токсический эффект нанотрубок, обеспечивая возможность дальнейшего формирования биопленки [Upadhyayula, Gadhamshetty, 2010].

На биопленкообразование влияет введение углеродных нанотрубок в состав композиционных материалов. Так, например, было показано, что введение МУНТ в состав материала эндопротеза, с одновременной пропиткой материала антибиотиком рифампицином, эффективно против образования биопленки *Staphylococcus epidermidis* [Hirschfeld et al., 2017]. Анионный краситель, конъюгированный с МУНТ, повышал активность фоторазрушения биопленок *E. coli* [Anju et al., 2018]. Тем не менее, значимо не только влияние углеродных нанотрубок в составе композиционных материалов на биопленкообразование микроорганизмов, но и воздействие на этот процесс углеродных наноматериалов, диспергированных в среде.

Вопрос о влиянии углеродных нанотрубок на бактерии остается не до конца изученным, а полученные данные противоречивыми, что делает актуальным его дальнейшее изучение. В связи с этим, целью данной работы явилась оценка биопленкообразования *E. coli* в ответ на присутствие многостенных углеродных нанотрубок в среде культивирования и разрушения биопленки под воздействием этих наноматериалов.

Материалы и методы исследования

Объекты исследования и условия культивирования. Объектами исследования явились штаммы кишечной палочки *E. coli* K12 ATCC, *E. coli* K12 TG1 (pXen7), *E. coli*, выделенные из разных источников [Гизатуллина и др., 2020]: кишечного тракта куриц (условно назван П), свиней (С), кроликов (К). Штаммы культивировали на жидкой среде LB (25 г/л, Sigma-Aldrich, США). Многостенные углеродные нанотрубки, очищенные (оМУНТ) и неочищенные (нМУНТ), добавляли в среду LB до конечной концентрации 200 мг/л.

МУНТ синтезировали в Уральском научно-исследовательском институте композиционных ма-

териалов (г. Пермь, Россия) осаждением из природного газа на катализаторе, содержащем оксиды магния, никеля, кобальта и частицы металлического сплава никеля и кобальта. Неочищенные МУНТ содержали 83.0% С, 16.6% MgO, 0.3% Со, 0.1% Ni, очищенные – 99.3% С и менее 0.1% примесей Со и Ni. МУНТ обладали следующими характеристиками: внешний диаметр 5–35 нм, внутренний диаметр 3–14 нм, длина не менее 2 мкм, удельная поверхность не менее 400 м²/г [Никулин, Руденко, 2011; Максимова и др., 2017].

Биопленки получали в полистерольном плоскодонном 96-луночном планшете (ОАО "Фирма Медполимер", Россия). В лунки планшета вносили по 200 мкл среды LB с оМУНТ и нМУНТ и инокулировали 5 мкл суспензии бактерий (ОП₅₄₀=0.5). В качестве контроля инокулировали среду LB без нанотрубок. Инкубировали 1–7 сут. в термостате при 30°C.

Для изучения влияния МУНТ на зрелые биопленки после 7 сут. выращивания на среде LB биопленку отмывали 2 раза калий-фосфатным буфером (рН 7.2), в лунки вносили по 200 мкл 0.9%-ного раствора NaCl с оМУНТ или нМУНТ (200 мг/л) и на сутки помещали в термостат при 30°C. В качестве контроля вносили 200 мкл 0.9%-ного раствора NaCl без нанотрубок.

Определение массивности биопленки. Из планшетов с биопленками удаляли питательную среду и планктонные клетки декантацией, отмывали биопленку 200 мкл калий-фосфатного буфера (рН 7.2) дважды. Биопленку окрашивали 0.1%-ным кристаллическим фиолетовым в течение 40 мин. в темноте, удаляли краситель, отмывали окрашенную биопленку 1 раз калий-фосфатным буфером и экстрагировали краситель 96%-ным спиртом (200 мкл) 20 мин. Биопленкообразование оценивали по оптической плотности раствора красителя при 540 нм на планшетном ридере Infinite M200 pro («TECAN», Швейцария).

Определение общего содержания АТФ в биопленках и интенсивности свечения *E. coli* K12 TG1 (pXen7). Для оценки энергетического статуса клеток к биопленкам добавляли 150 мкл диметилсульфоксида (ДМСО) и экстрагировали АТФ в течение 15 мин. на льду. Концентрацию АТФ определяли, используя стандартный набор реактивов (АТФ Bioluminescent Assay Kit, Sigma). Пробы разводили в 10 раз деионизированной водой, смешивали 100 мкл образца с 100 мкл реагента, содержащего люциферин и люциферазу светляков. Интенсивность свечения измеряли на планшетном ридере Infinite M1000 pro («TECAN», Швейцария). Количество АТФ пересчитывали по калибровочной кривой.

Уровень свечения биопленок *E. coli* K12 TG1 (pXen7) определяли на планшетном ридере Infinite M1000 pro («ТЕСАН», Швейцария) и выражали в усл. ед. свечения.

Статистическую обработку проводили с использованием t-критерия Стьюдента, различия считали значимыми при $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

Изучено влияние очищенных и неочищенных многостенных углеродных нанотрубок на биоуплообразование *E. coli* K12 и штаммов кишечной палочки, выделенных из различных экологических ниш (кишечного тракта куриц, свиней, птиц, кроликов). Показано, что наноматериалы по-разному влияли на общую массивность биопленки в зависимости от штамма и возраста биопленки (рис. 1).

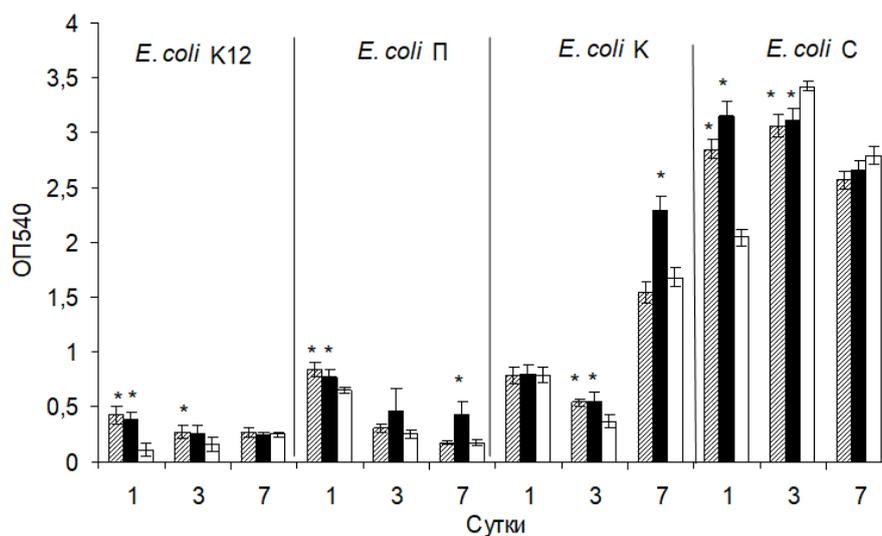


Рис. 1. Влияние оМУНТ (столбцы со штриховкой) и нМУНТ (черные столбцы) на формирование биопленок *E. coli* на 1; 3- и 7-е сут. роста. Контроль – рост биопленок на среде LB (белые столбцы). (* $p < 0.05$)

Показано, что в первые сутки роста углеродные нанотрубки разной степени очистки приводят к повышенному биоуплообразованию штаммов *E. coli* K12, П, С и на третьи сутки – *E. coli* К. К седьмым суткам роста разница в биоуплообразовании незаметна, за исключением штаммов *E. coli* П и К, к усиленному образованию биопленок которых приводит только нМУНТ. Разница в биоуплообразовании может быть связана с различной гидрофобностью поверхности клеток, которая меняется в процессе старения культуры [Евтюгин и др., 2009], в скорости роста данного штамма, а следовательно, и в различных скоростях образования биопленки. Гидрофобные МУНТ образуют агрегаты с клетками, ускоряя преципитацию и увеличивая адгезию к поверхности. Формирование более массивной биопленки может быть вызвано как следствием адаптивной реакции бактерий, так и более интенсивной агрегацией клеток в присутствии нанотрубок.

Чтобы сделать заключение, на какой компонент биопленок воздействуют МУНТ, оценили содержание жизнеспособных клеток в биопленке. Так как метод подсчета КОЕ недостаточно точен для биопленок в связи со сложностью разрушения клеточных агрегатов, определили общее содержание

АТФ в клетках биопленки (табл. 1). Известно, что концентрация АТФ отражает количество жизнеспособных клеток [Ефременко и др., 2005] и в то же время свидетельствует о физиологическом состоянии клетки. В целом, из-за того, что в биопленке часть клеток находится в гипометаболическом состоянии, общее содержание АТФ будет ниже, чем в аналогичном количестве планктонных клеток.

Таблица 1

Содержание АТФ в биопленках, нмоль/лунку

Штамм	оМУНТ	нМУНТ	Контроль
<i>E. coli</i> K12	0.005±0.001	0.007±0.003	0.005±0.001
<i>E. coli</i> П	0.049±0.006*	0.014±0.001	0.012±0.001
<i>E. coli</i> К	0.040±0.005*	0.052±0.012*	0.016±0.002
<i>E. coli</i> С	0.086±0.009	0.127±0.021*	0.080±0.010

Примечание. * $p < 0.05$.

В биопленках *E. coli* K12 к седьмым суткам культивирования не было обнаружено достоверного отличия от контроля в содержании АТФ при формировании биопленки в присутствии углеродных наноматериалов. Для биопленок кишечной палочки, выделенной из природных источников, было отмечено достоверное отличие в содержании АТФ, однако полной корреляции с данными, от-

ражающими общее биопленкообразование, обнаружено не было. Так как клетки в биопленке погружены в полимерный матрикс, ее общая массивность может зависеть не только от количества клеток, но и от интенсивности выработки внеклеточных полисахаридов.

Изучено разрушение зрелых биопленок *E. coli* под действием МУНТ. После инкубации биопленок в физиологическом растворе в течение суток была определена общая массивность биопленок по методу, основанному на их окраске кристаллическим фиолетовым. Показано достоверно большее разрушение биопленок *E. coli* K12 и *E. coli* K под воздействием оМУНТ по сравнению с контролем (рис. 2).

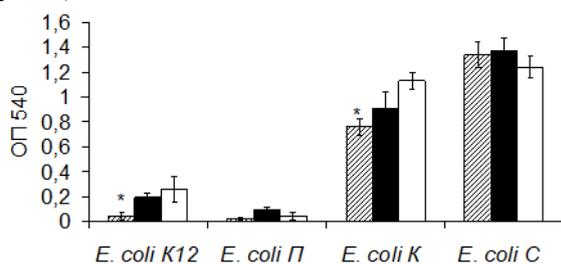


Рис. 2. Разрушение биопленок *E. coli* под воздействием оМУНТ (столбцы со штриховкой), нМУНТ (черные столбцы) по сравнению с контролем (белые столбцы). (* $p < 0.05$)

Оценили влияние МУНТ на свечение биопленок люминесцентного штамма *E. coli* K12 TG1 (pXen7). Свечение биопленок, выращенных в присутствии МУНТ, не отличалось от контроля, тогда как свечение зрелых биопленок, инкубированных в физиологическом растворе с МУНТ в течение суток, было достоверно ниже контроля (табл. 2).

Таблица 2

Влияние МУНТ, добавленных в среду культивирования, на уровень биолюминесценции биопленок *E. coli* K12 TG1 (pXen7), усл. ед. свечения

	оМУНТ	нМУНТ	контроль
1	37890±3727	45100±2864	36779±2404
2	1636±104*	1173±56*	2391±127

Примечание. 1 – воздействие МУНТ на рост биопленок в течение 7 сут., 2 – воздействие МУНТ на зрелые биопленки в течение суток, *($p < 0.05$).

Следовательно, как очищенные, так и неочищенные МУНТ в среде вызывали более интенсивное разрушение биопленки. Известно, что люминесцентные бактерии являются тест-объектами для оценки биотоксичности углеродных наноматериалов [Дерябин, Алешина, Ефремова, 2012], и методом, основанным на принципе гашения люминесценции *E. coli* K12 TG1, была показана токсичность одностенных углеродных нанотрубок [Зарубина и др., 2009]. МУНТ оказывают менее выра-

женное бактерицидное действие, чем одностенные нанотрубки, что было показано в нашем исследовании и согласуется с литературными данными [Kang et al., 2007; Jackson et al., 2013; Chi et al., 2016; Maas, 2016].

Заключение

Таким образом, влияние многостенных углеродных нанотрубок на *E. coli* штаммоспецифично. Не обнаружено четкой зависимости биопленкообразования и разрушения сформированных биопленок от степени очистки нанотрубок. Однако можно заключить, что в процессе роста культуры и формирования биопленки наноматериалы этого типа не оказывают отрицательного воздействия на жизнеспособность, и некоторые изученные штаммы формируют более массивную биопленку, чем в среде без нанотрубок. Присутствие углеродных нанотрубок в среде вызывает более интенсивное разрушение биопленок люминесцентного штамма *E. coli* K12 TG1 (pXen7) и штаммов *E. coli* K12 и *E. coli* K. Данный тип углеродных наноматериалов не оказывает антибактериального действия на кишечную палочку и приводит к более интенсивному биопленкообразованию ряда штаммов *E. coli*, выделенных из различных источников.

Авторы благодарят д-ра мед. наук М.В. Кузнецову и аспиранта Ю.С. Гизатуллину за предоставленные природные штаммы *E. coli* и канд. биол. наук И.Л. Масленникову за предоставленный штамм *E. coli* K12 TG1 (pXen7).

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Пермского края в рамках научно-го проекта № 20-44-596002.

Список литературы

- Гизатуллина Ю.С. и др. Биологическая характеристика штаммов *Escherichia coli*, изолированных от сельскохозяйственных животных // Симбиоз-Россия 2020: сб. статей XII Всерос. конгресса молодых ученых-биологов с международным участием. Пермь, 2020. С. 78–82.
- Дерябин Д.Г., Алешина Е.С., Ефремова Л.В. Применение теста бактериальной биолюминесценции для оценки биотоксичности углеродных наноматериалов // Микробиология. 2012. Т. 81, № 4. С. 532–538.
- Евтюгин В.Г. и др. Сорбция микроорганизмов крупнопористыми агарозными криогелями, содержащими привитые алифатические цепи различной длины // Микробиология. 2009. Т. 78, № 5. С. 667–673.
- Ефременко Е.Н. и др. Определение биолюминесцентным методом минимальных ингибирующих концентраций веществ по отношению к

- бактериям, участвующим в биокоррозии // Прикладная биохимия и микробиология. 2005. Т. 41, № 4. С. 429–434.
- Зарубина А.П. и др. Биотестирование биологических эффектов одностенных углеродных нанотрубок с использованием тест-системы люминесцентных бактерий // Российские нанотехнологии. 2009. Т. 4, № 11–12. С. 152–155.
- Максимова Ю.Г. и др. Гетерогенный биокатализатор на основе клеток нитрилгидролизующих бактерий и многослойных углеродных нанотрубок для трансформации нитрилов и амидов // Прикладная биохимия и микробиология. 2017. Т. 53, № 5. С. 462–469.
- Никулин С.М., Руденко Д.А. Синтез многослойных углеродных нанотрубок и их применение в производстве композиционных материалов // Перспективные материалы. 2011. № 11. С. 54–62.
- Anju V.T. et al. Antimicrobial photodynamic activity of rose bengal conjugated multi walled carbon nanotubes against planktonic cells and biofilm of *Escherichia coli* // Photodiagnosis and Photodynamic Therapy. 2018. Vol. 24. P. 300–310.
- Aqel A. et al. Carbon nanotubes, science and technology part (I) structure, synthesis and characterisation // Arabian J. Chem. 2012. Vol. 5 (1). P. 1–23.
- Chi M.-F. et al. Inactivation of *Escherichia coli* planktonic cells by multi-walled carbon nanotubes in suspensions: Effect of surface functionalization coupled with medium nutrition level // J. Hazard. Mater. 2016. Vol. 318. P. 507–514.
- Jackson P. et al. Bioaccumulation and ecotoxicity of carbon nanotubes // Chem. Cent. J. 2013. 7 : 154. 21 p. DOI: 10.1186/1752-153X-7-154.
- Hirschfeld J. et al. Long-term release of antibiotics by carbon nanotube-coated titanium alloy surfaces diminish biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2017. Vol. 13 (4). P. 1587–1593.
- Kang S. et al. Single-walled carbon nanotubes exhibit strong antimicrobial activity // Langmuir. 2007. Vol. 23. P. 8670–8673.
- Kang S. et al. Antibacterial effects of carbon nanotubes: size does matter! // Langmuir. 2008. Vol. 24, № 13. P. 6409–6413.
- Liu S. et al. Antibacterial action of dispersed single-walled carbon nanotubes on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* investigated by atomic force microscopy // Nanoscale. 2010. Vol. 2. P. 2744–2750.
- Maas M. Carbon nanomaterials as antibacterial colloids // Materials. 2016. Vol. 9(8) : 617.
- Rodrigues D.F., Elimelech M. Toxic effects of single-walled carbon nanotubes in the development of *E. coli* biofilm // Environ. Sci. Technol. 2010. Vol. 44. P. 4583–4589.
- Sun Y., Zhang Z. New anti-biofouling carbon nanotubes-filled polydimethylsiloxane composites against colonization by pioneer eukaryotic microbes // Int. Biodeterior. Biodegrad. 2016. Vol. 110. P. 147–154.
- Teixeira-Santos R. et al. Antimicrobial and anti-adhesive properties of carbon nanotube-based surfaces for medical applications: a systematic review // iScience. 2021. Vol. 24. 102001.
- Upadhyayula V.K.K., Gadhamshetty V. Appreciating the role of carbon nanotube composites in preventing biofouling and promoting biofilms on material surfaces in environmental engineering: A review // Biotechnol. Adv. 2010. Vol. 28. P. 802–816.
- Yang C. et al. Antimicrobial activity of single-walled carbon nanotubes: length effect // Langmuir. 2010. Vol. 26, № 20. P. 16013–16019.

References

- Gizatullina Yu.S. et al. [Biological characteristics of *Escherichia coli* strains isolated from farm animals]. *Simbioz-Rossija 2020: Sbornik statej* [Symbiosis-Russia 2020: Articles of the XII Russian Congress of Young Scientists-Biologist]. Perm, 2020, pp. 78-82. (In Russ.).
- Deryabin D.G., Aleshina E.S., Efremova L.V. Application of the inhibition of bacterial bioluminescence test for assessment of toxicity of carbon-based nanomaterials. *Mikrobiologija*. V. 81, N 4 (2012): pp. 492-497.
- Evyugin V.G. et al. Sorption of microorganisms by wide-porous agarose cryogels containing grafted aliphatic chains of different length. *Mikrobiologija*. V. 78, N 5 (2009): pp. 603-608.
- Efremenko E.N. et al. Determination of minimal concentrations of biocorrosion inhibitors by a bioluminescence method. *Applied Biochemistry and Microbiology*. V. 41, N 4 2005: pp. 377-381.
- Zarubina A.P. et al. Biotesting the biological effects of single-wall carbon nanotubes using bioluminescent bacteria test-system. *Nanotechnologies in Russia*. V. 4, N 11–12 (2009): pp. 871-875.
- Maksimova Y.G., Demakov V.A., Osovetskii B.M., Nikulin S.M. Heterogeneous biocatalyst for nitrile and amide transformation based on cells of nitrile-hydrolyzing bacteria and multiwalled carbon nanotubes. *Applied Biochemistry and Microbiology*. V. 53, N 5 (2017): pp 506-512.
- Nikulin S.M., Rudenko D.A. [Synthesis of multilayer carbon nanotubes and their application in the production of composite materials]. *Perspektivnye materialy*. N 11 (2011): pp. 54-62. (In Russ.).
- Anju V.T. et al. Antimicrobial photodynamic activity of rose bengal conjugated multi walled carbon nanotubes against planktonic cells and biofilm of *Escherichia coli*. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. V. 24 (2018): pp. 300-310.

- Aqel A. et al. Carbon nanotubes, science and technology part (I) structure, synthesis and characterisation. *Arabian J. Chem.* V. 5 (1) (2012): pp. 1-23.
- Chi M.-F. et al. Inactivation of *Escherichia coli* planktonic cells by multi-walled carbon nanotubes in suspensions: Effect of surface functionalization coupled with medium nutrition level. *J. Hazard. Mater.* V. 318 (2016): pp. 507-514.
- Jackson P. et al. Bioaccumulation and ecotoxicity of carbon nanotubes. *Chem. Cent. J.* (2013): 7:154.
- Hirschfeld J. et al. Long-term release of antibiotics by carbon nanotube-coated titanium alloy surfaces diminish biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine.* V. 13, N 4 (2017): pp. 1587-1593.
- Kang S. et al. Single-walled carbon nanotubes exhibit strong antimicrobial activity. *Langmuir.* V. 23 (2007): pp. 8670-8673.
- Kang S. et al. Antibacterial effects of carbon nanotubes: size does matter! *Langmuir.* V. 24, N 13 (2008): pp. 6409-6413.
- Liu S. et al. Antibacterial action of dispersed single-walled carbon nanotubes on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* investigated by atomic force microscopy. *Nanoscale.* V. 2 (2010): pp. 2744-2750.
- Maas M. Carbon nanomaterials as antibacterial colloids. *Materials.* V. 9, N 8 (2016): 617.
- Rodrigues D.F., Elimelech M. Toxic effects of single-walled carbon nanotubes in the development of *E. coli* biofilm. *Environ. Sci. Technol.* V. 44 (2010): pp. 4583-4589.
- Sun Y., Zhang Z. New anti-biofouling carbon nanotubes-filled polydimethylsiloxane composites against colonization by pioneer eukaryotic microbes. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* V. 110 (2016): pp. 147-154.
- Teixeira-Santos R. et al. Antimicrobial and anti-adhesive properties of carbon nanotube-based surfaces for medical applications: a systematic review. *iScience.* V. 24. (2021): 102001.
- Upadhyayula V.K.K., Gadhamshetty V. Appreciating the role of carbon nanotube composites in preventing biofouling and promoting biofilms on material surfaces in environmental engineering: A review. *Biotechnol. Adv.* V. 28 (2010): pp. 802-816.
- Yang C. et al. Antimicrobial activity of single-walled carbon nanotubes: length effect. *Langmuir.* V. 26, N 20. (2010): pp. 16013-16019.

Поступила в редакцию 17.03.2021

Об авторах

Максимова Юлия Геннадьевна, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии

"Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН" - филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН

ORCID: 0000-0003-1870-1369

614081, Пермь, ул. Голева, 13; maks@iegm.ru; (342)2124476

профессор кафедры микробиологии и иммунологии

ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

Быкова Яна Евгеньевна, магистрант

биологического факультета

ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

ORCID: 0000-0003-4930-5537

614068, г. Пермь, ГСП, ул. Букирева, 15; yanabykovaa@mail.ru

About the authors

Maksimova Yuliya Gennad'evna, doctor of biology, Leading Researcher of the Laboratory of Molecular Microbiology and Biotechnology Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS.

ORCID: 0000-0003-1870-1369

13, Golev str., Perm, Russia, 614081;

maks@iegm.ru; (342)2124476

professor of the Department of Microbiology and Immunology

Perm State University

Bykova Yana Evgenievna, Master's student of the Faculty of Biology

Perm State University.

ORCID: 0000-0003-4930-5537

15, Bukireva str., Perm, Russia, 614068;

yanabykovaa@mail.ru

Информация для цитирования:

Максимова Ю.Г., Быкова Я.Е. Влияние многостенных углеродных нанотрубок на биопленкообразование *Escherichia coli* // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2021. Вып. 2. С. 87–92. DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-87-92.

Maksimova Yu.G., Bykova Ya.E. [Effect of multi-walled carbon nanotubes on *Escherichia coli* biofilm formation]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologiya.* Iss. 2 (2021): pp. 87-92. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-87-92.

УДК 579.222

DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-93-100.

Э. А. Назарова^a, М. Г. Первова^b, Д. О. Егорова^{a,c}

^a Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

^b Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург, Россия

^c Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ АЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЛИНДАН-ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВ

Установлено, что в почвах, отобранных на территории ОАО «Средне-Волжский завод химикатов» г. Чапаевск Самарской обл. в 2013 г. концентрация линдана варьирует в диапазоне 0.393–53.449 мг/кг почвы. Из почв выделены 26 штаммов аэробных культивируемых бактерий. Показано, что существует прямая корреляционная зависимость между уровнем загрязнения почвенного образца линданом и количеством изолированных штаммов. Доминирующее положение занимают представители филума *Proteobacteria*, классов α -, β - и γ -*Proteobacteria*. Установлено, что штаммы *Ochrobactrum* sp. NE3 и *Ochrobactrum* sp. 132 осуществляют разложение побочных продуктов биотрансформации линдана (1,2,4-ТХБ и 2,5-ДХФ) и могут быть рекомендованы для использования в биотехнологиях ремедиации линдан-загрязненных почв для предотвращения накопления опасных соединений.

Ключевые слова: линдан; аэробные бактерии; селекция; деструкция.

E. A. Nazarova^a, M. G. Pervova^b, D. O. Egorova^{a,c}

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

^b Postovsky Institute of Organic Synthesis Ural Branch of the RAS, Ekaterinburg, Russian Federation

^c Perm State University, Perm, Russian Federation

Diversity of culturable aerobic bacteria isolated from lindane-contaminated soils

It was found that in the soils sampled on the territory of OJSC "Sredne-Volzhsky plant of chemicals" in Chapaevsk, Samara region in 2013, the concentration of lindane varies in the range of 0.393 - 53.449 mg / kg of soil. 26 strains of aerobic culturable bacteria were isolated from soils. It was shown that there is a direct correlation between the level of contamination of the soil sample with lindane and the number of isolated strains. The dominant position is occupied by representatives of the phylum *Proteobacteria*, classes α -, β - and γ -*Proteobacteria*. It was found that strains of *Ochrobactrum* sp. NE3 and *Ochrobactrum* sp. 132 decompose by-products of biotransformation of lindane (1,2,4-TCB and 2,5-DCP), and can be recommended for use in biotechnologies for remediation of lindane-contaminated soils to prevent the accumulation of hazardous compounds.

Key words: lindane; aerobic bacteria; selection; destruction.

Введение

Линдан (γ -гексахлорциклогексан/ γ -ГХЦГ) включен в список стойких органических загрязнителей (СОЗ) в 2009 г. и подлежит полному уничтожению и выводу из производства и применения [Vijgen et al., 2011]. Значительные количества линдана были вынесены в окружающую среду в результате его применения в сельском хозяйстве в качестве пестицида. Кроме того, территории заводов, на которых производили линдан, и прилегающие к ним районы до настоящего момента являются сильно загрязненными данным соединением

[Vijgen et al., 2011].

По химической структуре ГХЦГ представляет собой цикл из 6 углеродных атомов, у каждого из которых в качестве заместителя расположен атом хлора. В зависимости от пространственной конфигурации молекулы выделяют α -, β -, γ -, δ - изомеры [Willet, Utrich, Hites, 1998]. Строение молекулы обуславливает уникальные химические свойства, благодаря которым гексахлорциклогексаны, в том числе и линдан (γ -ГХЦГ), устойчивы к воздействию факторов внешней среды и оказывают токсическое действие на живые организмы.

Длительное присутствие в почве чужеродных

для природы химических соединений оказывает влияние на состав микробоценозов. Преимущественное развитие получают группы бактерий, устойчивые к токсическому действию данных соединений, либо способные использовать данные соединения в качестве источников углерода и энергии. В литературе описан ряд аэробных бактерий, осуществляющих разложение линдана до соединений основного обмена веществ клетки, однако при этом происходит формирование экотоксичных побочных продуктов, таких как 1,2,4-трихлорбензол и 2,5-дихлорфенол [Nagata et al., 2007; Lal et al., 2010; Camacho-Pérez et al., 2012; Chuang et al., 2020].

Одним из районов с высоким уровнем загрязнения линданом в России является территория ОАО «Средне-Волжский завод химикатов», расположенного в г. Чапаевске Самарской обл. [Revich et al., 2001; Vijgen et al., 2011]. Вследствие продолжительного присутствия γ -ГХЦГ в почве данной территории можно предположить, что микробоценоз претерпел сукцессионные изменения и адаптировался к действию линдана. В связи с этим представляет интерес изучение аэробных бактерий, формирующих микрофлору данных почв.

Цель исследования – изучить разнообразие культивируемых аэробных бактерий из почв, длительное время загрязненных линданом, а также исследовать способность данных штаммов использовать в качестве источников углерода соединения, образующиеся при биодеструкции линдана.

Материалы и методы исследования

Почвенные образцы

Образцы почв были отобраны на территории ОАО «Средне-Волжский завод химикатов» (ОАО «СВЗХ») г. Чапаевск Самарской обл. в 2013 г. Отбор почв производили согласно ГОСТ 17.4.3.01-82. Транспортировка и хранение почв осуществлялись с соблюдением температурного режима.

Анализ почв на содержание линдана

Пробу почвы 10 г заворачивали в фильтр «белая лента», помещали в аппарат Сокслета и экстрагировали смесью гексан : ацетон в соотношении 50 : 70 в течение 3 ч. После экстракции колбу с экстрактом охлаждали до комнатной температуры. Охлажденный экстракт сливали в делительную воронку и приливали около 150 мл дистиллированной воды, встряхивали 2 раза по 2 мин. После разделения фаз водный раствор ацетона удаляли, а гексановый экстракт сушили над безводным сульфатом натрия в течение 15–20 мин. Высушенный экстракт помещали в грушевидную колбу и проводили отгонку гексана на ротационном испарителе при вакууме, создаваемом водоструйным насосом,

и экстракт концентрировали до объема 3 мл. Полученный экстракт переливали в делительную воронку на 25 мл, в колбу добавляли 2 мл гексана, смывали остатки раствора и присоединяли к экстракту. Объем экстракта составил 5 мл. В воронку добавляли 2 мл концентрированной серной кислоты, встряхивали, после расслоения фаз кислотный слой отделяли и гексановый слой промывали 10 мл дистиллированной воды. После расслоения фаз гексановый экстракт отделяли и сушили 10 мин. над безводным сульфатом натрия, проводили анализ полученного раствора в условиях ГХ-ПИД, ГХ-ЭЗД и ГХ-МСД.

ГХ-ПИД условия: газовый хроматограф «Shimadzu GC 2010», с пламенно-ионизационным детектором (ГХ-ПИД), кварцевой капиллярной колонкой ZB-5 длиной 30 м, диаметром 0.25 мм, толщина пленки 0.25 мкм. Начальная температура колонки 40°C (выдержка 3 мин.), далее нагрев со скоростью 10°C/мин., до 280°C (выдержка 30 мин.). Температура испарителя 250°C, детектора 300°C. Газ-носитель – азот, деление потока 1:30, расход через колонку 1.0 мл/мин. Вводили 1.0 мкл.

ГХ-ЭЗД условия: газовый хроматограф «Shimadzu GC 17A», с электронно-захватным детектором (ГХ-ЭЗД), кварцевой капиллярной колонкой ZB-5 длиной 30 м, диаметром 0.25 мм, толщина пленки 0.25 мкм. Начальная температура колонки 40°C (выдержка 3 мин.), далее нагрев со скоростью 10°C/мин., до 270°C (выдержка 30 мин.). Температура испарителя 250°C, детектора 300°C. Газ-носитель – азот, деление потока 1:30, расход через колонку 1.0 мл/мин. Вводили 1.0 мкл.

ГХ-МСД условия: газовый хроматограф-масс-спектрометр «Agilent GC 7890A MS 5975C Inert XL EI/CI» с квадрупольным масс-спектрометрическим детектором, кварцевой капиллярной колонкой HP-5MS длиной 30 м, диаметром 0.25 мм, толщина пленки 0.25 мкм.; электронная ионизация при энергии излучения 70 эВ; сканирование по полному ионному току в интервале m/z 20-1000 Da; газ-носитель – гелий, деление потока 1:50, расход через колонку 1.0 мл/мин; температура колонки – начальная 40°C (выдержка 3 мин.), программирование со скоростью 10°C/мин. до 290°C (выдержка 30 мин.), температура испарителя – 250°C, температура источника – 230°C, квадруполь – 150°C, переходной камеры – 280°C. Вводили 1.0 мкл.

Количественную оценку содержания линдана проводили по методу абсолютной градуировки с использованием градуировочных растворов, приготовленных из ГСО состава линдана № 1855-91П.

Среды культивирования, реактивы

Минеральная среда Раймонда, состава (г/л): K_2HPO_4 – 2.0, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$ – 7.56, NH_4NO_3 –

2.0, $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0.41, Na_2CO_3 – 0.1, $CaCl_2 \times 2H_2O$ – 0.013. Среда Luria-Bertani (LB), состава (г/л): триптон – 10.0, дрожжевой экстракт – 5.0, NaCl – 10.0. Для получения плотных питательных сред вносили агар-агар до конечной концентрации 1.5%.

В работе использовали аналитически чистые химические реактивы, линдан (>98%), 1,2,4-трихлорбензол (1,2,4-ТХБ) (>98%), 2,5-дихлорфенол (2,5-ДХФ) (>98%), 2,5-дихлоргидрохинон (>98%), катехол (>98%), фирмы Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany).

Накопительное культивирование

10 г почвенного образца помещали в колбу Эрленмейера объемом 250 мл, содержащую 100 мл среды Раймонда и линдан (1 г/л). Культивирование осуществляли на термостатируемой качалке Environmental Shaker-Incubator ES-20/60 («BioSan», Латвия) со скоростью 120 об/мин и 28°C.

Выделение аэробных культивируемых бактериальных штаммов

Выделение индивидуальных штаммов производили высевом суспензии накопительной культуры на агаризованную среду Раймонда с линданом с применением классического метода серийных разведений. Контроль морфологии колоний осуществляли при высевах бактериальных штаммов на агаризованную среду LB.

Идентификация выделенных бактерий

ДНК из чистых культур бактерий выделяли общепринятым методом [Short protocols ..., 1995]. Идентификацию бактерий осуществляли при амплификации гена 16S рРНК с использованием стандартных бактериальных праймеров 27F и 1492R.

Секвенирование и анализ генов 16S рРНК

Нуклеотидные последовательности определяли с применением набора реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit v. 3.1 («Applied Biosystems», США) на автоматическом секвенаторе Genetic Analyser 3500XL («Applied Biosystems», США) согласно рекомендациям производителя. Анализ нуклеотидных последовательностей осуществляли с использованием программ MEGA X (<http://www.megasoftware.net>). Поиск гомологичных последовательностей проводили в базе данных EzTaxon (<http://www.ezbiocloud.net>).

Периодическое культивирование

Бактериальную культуру, взятую с плотной питательной среды, помещали в колбу Эрленмейера объемом 250 мл, содержащую 100 мл среды Рай-

монда и 10 мг одного из субстратов (линдан, 1,2,4-ТХБ, 2,5-ДХФ). Культивирование проводили на термостатируемой круговой качалке (Environmental Shaker-Incubator ES 20/60, «BioSan», Латвия) при 120 об/мин и +28°C. Отбор образцов для анализа производили на 10-, 16- и 57-е сут. Оптическую плотность культуры измеряли на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini («Shimadzu», Япония) при $\lambda_{\text{макс}} = 600$ нм.

Деструкция 1,2,4-ТХБ и 2,5-ДХФ

При исследовании деструкции 1,2,4-ТХБ и 2,5-ДХФ бактериальные культуры, выращенные на среде LB и дважды отмытые в среде Раймонда переносили во флаконы с тefлоновыми крышками, содержащими 5 мл среды Раймонда и добавляли субстраты 1,2,4-ТХБ или 2,5-ДХФ до конечной концентрации 0.1 г/л. Концентрация клеток составила 1×10^6 КОЕ/мл. Культивирование осуществляли на шейкере (Environmental Shaker-Incubator ES 20/60, «BioSan», Латвия) 200 об/мин при +28°C и при +7°C.

Анализ культуральной жидкости на содержание 1,2,4-ТХБ, 2,5-ДХФ и ионов хлора

ГХ-МС анализ содержания 2,5-дихлорфенола в среде культивирования проводили в хлороформном экстракте культуральной жидкости, который предварительно обезвоживали добавлением сульфата натрия, с помощью метода хромато-масс-спектрометрии (ХМС) («Agilent 6890/5973N», США) с масс-селективным детектором, кварцевой колонкой "RESTEK RTx-5MS" ("Restek", США). В качестве газа-носителя использовали гелий, скорость потока 1 мл/мин. Объем впрыска 1.0 мкл. Режим нагревания: температура испарителя 220°C, начальная температура колонки 60°C (2-минутная экспозиция), с последующим нагреванием при 20°C мин.⁻¹ до 300°C. Общее время анализа 14 мин. Анализ хроматограмм проводили программой MSD Productivity ChemStation ("Agilent", США). Расчет концентрации анализируемых веществ вели по площадям пиков в сравнении с площадью пиков контрольного образца. Эксперимент проводили в трехкратной повторности.

Эффективность деструкции 1,2,4-ТХБ и 2,5-ДХФ определяли методом ВЭЖХ. Для анализа культуральную жидкость очищали от бактериальных клеток центрифугированием (9660 г в течение 3 мин. на центрифуге miniSpin («Eppendorf», Германия)). Наличие в супернатанте 1,2,4-ТХБ и 2,5-ДХ определяли на хроматографе LC-20A («Shimadzu», Япония) с колонкой Discovery C18 (150 × 4.6 мм или 250 × 4.6 мм) («Supelco», «Sigma-Aldrich», США) и УФ-детектором при 205 нм. Анализ проводили в системе ацетонитрил-0.1%-ный H_3PO_4 (70:30). Идентификация – с

помощью сравнения времени удержания на колонке исследуемых и стандартных соединений. Стандартами сравнения являлись 1,2,4-ТХБ, 2,5-ДХФ, 2,5-дихлоргидрохинон, растворенные в ацетонитриле. Количество образовавшихся продуктов оценивали по величине площади и высоте пиков на хроматограмме относительно данных величин стандартных соединений.

Наличие ионов хлора в супернатанте определяли качественно на спектрофотометре UV-Visible BioSpec-mini («Shimadzu», Япония) при $\lambda_{\text{макс}}$ от 460 нм до 540 нм через 5 мин. после внесения в супернатант 5%-ного азотнокислого серебра.

Скорость деструкции субстрата рассчитывали по формуле

$$V = (C_0 - C_t) / (t_t - t_0),$$

где C_0 – концентрация субстрата в начальный момент времени, мг/л, C_t – концентрация субстрата в конечный момент времени, мг/л, t_t – конечный момент времени, суг, t_0 – начальный момент времени.

Статистический анализ

Все эксперименты проводили в трехкратной повторности. Полученные данные обрабатывали с использованием стандартных пакетов компьютерных программ Microsoft Excel и Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

Для изучения бактериального разнообразия линдан-загрязненных почв с территории предприятия, длительное время производившего линдан и другие соединения хлороорганического ряда, было отобрано шесть образцов. Газохроматографический анализ показал, что в пяти почвенных образцах присутствует линдан (табл. 1).

Таблица 1

Содержание линдана (γ -гексахлорцикло-гексана) в образцах почв

Образец почвы	Линдан	
	мг/кг почвы	превышение ПДК, раз
1	н.о.*	–
2	1.843	18.4
3	4.174	41.7
4	53.449	534.5
5	0.393	3.9
6	5.468	54.7

Примечание. * н.о. – не обнаружено.

Выявленные концентрации линдана в почве превышают установленное значение ПДК, составляющее 0.1 мг/кг почвы [ГН 1.2.3539-18], в среднем (за исключением образцов 1 и 4) в 30 раз. Наиболее загрязненным является образец 4, в котором ПДК превышена более чем в 500 раз. Напротив, в образце 1 линдан не обнаружен.

Полученные результаты свидетельствуют о неравномерном распределении загрязнителя по территории ОАО «СВЗХ». Однако проведенные расчеты не позволили установить достоверных зависимостей между концентрацией линдана в почве и удаленностью точки пробоотбора от зданий цехов, а также от преобладающих ветров. Вероятно, накопление линдана в тех или иных участках связано с комплексом факторов.

В результате накопительного культивирования было выделено 26 индивидуальных аэробных бактериальных штаммов. Два из них, *Achromobacter* sp. NE1 and *Brevundimonas* sp. 242, более подробно описаны в статье [Егорова, Назарова, Демаков, 2021]. Наибольшее число штаммов, устойчивых к линдану, изолировано из наиболее загрязненного почвенного образца (образец 4) (табл. 2). Они составляют 38.5% от общего числа выделенных штаммов. Несмотря на то, что в образце 1 не обнаружен линдан, из него были выделены 2 штамма, устойчивые к действию данного пестицида. Коэффициент корреляции между концентрацией линдана в почве и количеством изолированных штаммов составил 0.96, что, согласно шкале Чеддока, свидетельствует о высокой силе связи данных показателей.

Филогенетический анализ, проведенный на основании нуклеотидной последовательности гена 16S рНК, показал, что доминирующую позицию среди штаммов линдан-загрязненных почв занимают бактерии филума *Proteobacteria* – 95.8% (табл. 2). Среди изолированных штаммов выявлены 10 представителей класса α -*Proteobacteria*, родов *Brevundimonas* (штамм 148А), *Ochrobactrum* (штаммы 241, 153, 132, NE2, NE3, 140С, 265) и *Rhizobium* (штаммы 145b, 145С), 7 представителей класса β -*Proteobacteria*, рода *Achromobacter* (штаммы 250, 123, 147, 190, 247, М8 и 268) и 6 представителей класса γ -*Proteobacteria*, родов *Pseudomonas* (штаммы 240, 116А, 134, 127, 126) и *Pseudoxanthomonas* (штамм 235).

Бактериальные штаммы, выделенные из линдан-загрязненных территорий и описанные в литературе, принадлежат родам *Actinobacteria*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Chromohalobacter*, *Citribacter*, *Clostridium*, *Desulfovibrio*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Kokuria*, *Microbacterium*, *Pandorea*, *Pseudomonas*, *Rhodanobacter*, *Sphingobium*, *Sphingomonas*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Trametes*, *Xanthomonas* [Lal et al., 2010; Abhilash, Srivastava, Singh, 2011; Camacho-Pérez et al., 2012; Saez, García, Benimeli, 2017; Kumar, Pannu, 2018]. Наибольшее количество штаммов, разлагающих линдан, являются представителями родов *Sphingobium* и *Sphingomonas*. В настоящем исследовании доминирующее положение занимают: *Achromobacter* (29.1%),

Ochrobactrum (29.1%) и *Pseudomonas* (20.8%).

Таблица 2

**Сравнение нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК изолированных штаммов
с гомологичными последовательностями типовых штаммов**

Накопительная культура	Штамм, (номер GenBank)	Типовой штамм (номер GenBank)	Сходство, %
L1	240 (MW674743)	<i>Pseudomonas stutzeri</i> ATCC17588 ^T (CP002881)	99.86
	241 (MW674744)	<i>Ochrobactrum quorumnocens</i> A44 ^T (MG835335)	99.17
L2	116A (MW674630)	<i>Pseudomonas sichuanensis</i> WCHPs060030 ^T (QKVM0100012)	99.33
	134 (MW674735)	<i>Pseudomonas monteillii</i> NBRC103158 ^T (BBIC01000088)	100
	153 (MW674741)	<i>Ochrobactrum quorumnocens</i> A44 ^T (MG835335)	99.07
	235 (MW674742)	<i>Pseudoxanthomonas indica</i> P15 ^T (jgj.1118276)	99.36
L3	127 (MW674733)	<i>Pseudomonas putida</i> NBRC14164 ^T (AP013070)	99.88
	250 (MW674746)	<i>Achromobacter marplatensis</i> B2 ^T (EU150134)	100
L4	123 (MW674731)	<i>Achromobacter deleyi</i> LMG3458 ^T (HG324053)	100
	132 (MW674734)	<i>Ochrobactrum soli</i> BO-7 ^T (MH094651)	97.6
	147 (MW674739)	<i>Achromobacter marplatensis</i> B2 ^T (EU150134)	100
	148A (MW674740)	<i>Brevundimonas diminuta</i> ATCC11568 ^T (GL883089)	99.86
	190 (MW674749)	<i>Achromobacter insolutus</i> DSM23807 ^T (CP019325)	100
	247 (MW674745)	<i>Achromobacter marplatensis</i> B2 ^T (EU150134)	99.89
	M8 (MW674752)	<i>Achromobacter marplatensis</i> B2 ^T (EU150134)	99.78
	NE2 (MW674750)	<i>Ochrobactrum teleogrylli</i> LCB8 ^T (MK063698)	99.07
	NE3 (MW674751)	<i>Ochrobactrum soli</i> BO-7T (MH094651)	99.14
	NE4 (MW674753)	<i>Sphingobacterium siyangense</i> SY1 ^T (EU046272)	100
L5	145b (MW674737)	<i>Rhizobium pongamiae</i> VKLR-01 ^T (GQ444134)	98.67
	145C (MW674738)	<i>Rhizobium oryzihabitans</i> M15 ^T (MT023790)	99.09
L6	126 (MW674732)	<i>Pseudomonas asplenii</i> ATCC23835 ^T (LT629777)	99.88
	140C (MW674736)	<i>Ochrobactrum quorumnocens</i> A44 ^T (MG835335)	98.56
	265 (MW674747)	<i>Ochrobactrum quorumnocens</i> A44 ^T (MG835335)	99.21
	268 (MW674748)	<i>Achromobacter deleyi</i> LMG3458 ^T (HG324053)	100

Стоит отметить, что штаммы рода *Rhizobium* выделены только из почвенного образца 5, а штамм рода *Pseudoxanthomonas* – из почвенного образца 2, и не обнаружены в микробных сообществах остальных исследованных образцов почв. Наибольшее разнообразие выявлено среди представителей микробиоценоза образца 4. Наряду с бактериями филума *Proteobacteria*, выделен штамм NE4, показавший наибольшее сходство с типовым штаммом *Sphingobacterium siyangense* SY1^T (EU046272), принадлежащим филуму *Bacteroidetes* (табл. 2). При этом в микробиоценозе образца 4 не обнаружены штаммы рода *Pseudomonas*, встречающиеся в образцах 1, 2, 3 и 6.

Установлено, что все выделенные штаммы сохраняют жизнеспособность на протяжении 43 сут. культивирования в минеральной среде с внесением линдана. Несмотря на отсутствие активного прироста биомассы (изменение оптической плотности на 0.05–0.1 о.е. при длине волны 600 нм), в среде было зафиксировано накопление свободных ионов хлора. Полученные данные позволяют предположить, что штаммы, выделенные в настоящем исследовании, осуществляют дехлорирование линдана и частично используют его для обеспечения

жизненных процессов клетки.

Культивирование штаммов на 1,2,4-ТХБ и 2,5-ДХФ показало, что наибольший интерес для дальнейшего исследования представляют штаммы NE3 и 132, идентифицированные как представители рода *Ochrobactrum*. Оба штамма изолированы из почвенного образца 4.

Установлено, что данные штаммы способны осуществлять деструкцию побочных продуктов биотрансформации линдана – 1,2,4-ТХБ и 2,5-ДХФ в условиях культивирования при +28°C (табл. 3, 4). В случае культивирования при +7°C штаммы *Ochrobactrum* sp. NE3 и *Ochrobactrum* sp. 132 не осуществляют разложение данных соединений.

Таблица 3

Деструкция (%) субстратов культивирования

Штамм	2,5-ДХФ (57 сут)	1,2,4-ТХБ (18 сут)
132	23.3	–
NE3	16.1	66.7

Известно, что штаммы рода *Ochrobactrum* распространены в почве, ризосфере растений и сточной воде. Описан штамм *O. anthropi* SUBG007, в

геноме которого выявлены гены, ответственные за деградацию линдана, а также ряда ксенобиотиков [Kiran, Vrinda, 2017].

Таблица 4

Удельная скорость деструкции субстратов,
мг/(л×сут)

Штамм	2,5-ДХФ	1,2,4-ТХБ
132	0.65	–
NE3	0.45	6.11

Заключение

В результате проведенных исследований установлен уровень загрязненности линданом образцов почв, отобранных на территории ОАО «Средне-Волжский завод химикатов» г. Чапаевска Самарской обл. в 2013 г. Показано, что уровень загрязнения превышает нормы ПДК в десятки и сотни раз, при этом распределение загрязнителя по территории неравномерно. Установлена высокая корреляционная зависимость между концентрацией линдана в почве и количеством выделенных штаммов, устойчивых к действию линдана. Основная доля аэробных культивируемых бактерий в составе микробоценозов данных почв представлена штаммами филума *Proteobacteria*, в том числе трех классов: α -, β - и γ -*Proteobacteria*. Из наиболее загрязненного линданом почвенного образца 4 выделен штамм, принадлежащий филуму *Bacteroidetes*. Установлено, что штаммы *Ochrobactrum* sp. NE3 и *Ochrobactrum* sp. 132 осуществляют разложение побочных продуктов биотрансформации линдана (1,2,4-ТХБ и 2,5-ДХФ) и могут быть использованы в биотехнологиях очистки почвы от линдана для предотвращения накопления опасных соединений.

Работа выполнена в рамках НИОКР АААА-А19-119112290009-1 «Молекулярные механизмы адаптации микроорганизмов к факторам среды». Анализ почв методом газовой хроматографии выполнен с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Спектроскопия и анализ органических соединений» (ЦКП «САОС»). Остальные аналитические процедуры проведены с применением оборудования ЦКП «Исследования материалов и вещества» ПФИЦ УрО РАН, анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рНК выполнен на оборудовании молекулярно-генетической лаборатории кафедры ботаники и генетики растений ПГНИУ.

Список литературы

ГН 1.2.3539-18 Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень): Гигиенические нормативы.

- М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2019. 156 с.
- ГОСТ 17.4.3.01-82. Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб. Введ. 1983-01-01. М.: Госстандарт, 1983. 8 с.
- Егорова Д.О., Назарова Э.А., Демаков В.А. Новые штаммы-деструкторы линдана *Achromobacter* sp. NE1 и *Brevundimonas* sp. 242 // Микробиология. 2021. Т. 90, № 3. С. 357–361.
- Abhilash P.C., Srivastava S., Singh N. Comparative bioremediation potential of four rhizospheric microbial species against lindane // Chemosphere. 2011. Vol. 82, № 1. P. 56–63.
- Camacho-Pérez B. et al. Enzymes involved in the biodegradation of hexachlorocyclohexane: A mini review // Journal of Environmental Management. 2012. Vol. 95. P. S306–S318.
- Chuang S. et al. Microbial catabolism of lindane in distinct layers of acidic paddy soils combinedly affected by different water managements and bioremediation strategies // Science of Total Environment. 2020. Vol. 746. 140992
- Kiran S.C., Vrinda S.T. Genome sequence of *Ochrobactrum anthropi* strain SUBG007, a plant pathogen and potential xenobiotic compounds degradation bacterium // Genom Data. 2017. Vol. 4, № 11. P. 116–117.
- Kumar D., Pannu R. Perspectives of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) biodegradation from the environment: a review // Bioresources and Bioprocesses. 2018. Vol. 5. P. 29.
- Lal R. et al. Biochemistry of Microbial Degradation of Hexachlorocyclohexane and Prospects for Bioremediation // Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2010. Vol. 74, № 1. P. 58–80.
- Nagata Y. et al. Aerobic degradation of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) in bacteria and its biochemical and molecular basis // Applied and Microbiology Biotechnology. 2007. Vol. 76. P. 741–752.
- Revich B. et al. Dioxin exposure and public health in Chapaevsk, Russia // Chemosphere. 2001. Vol. 43. P. 951–966.
- Saez J.M., García V.C., Benimeli C.S. Improvement of lindane removal by *Satreptomices* sp. M7 by using stable microemulsions // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2017. Vol. 144. P. 351–359.
- Short protocols in molecular biology. 3rd ed. / Eds. Ausbel F.M., Brent R., Kingston R.E., Moore D.D., Seidman J.G., Smith J.A., Struhl K. New York: John Wiley & Sons, 1995, 450 p.
- Vijgen J. et al. Hexachlorocyclohexane (HCH) as new Stockholm Convention POPs – a global perspective on the management of lindane and its waste isomers // Environmental Science Pollution Research. 2011. Vol. 18. P. 152–162.

Willet K.L., Utrich E.M., Hites R.A. Differential toxicity and environmental facts of hexachlorocyclohexane isomers // *Environmental Science Technology*. 1998. Vol. 32. P. 2197–2207.

References

- GN 1.2.3539-18. *Gigieniĉeskie normativy soderžanija pesticidov v ob"ektach okružajjuščej sredy* [Hygienic standards for the content of pesticides in environmental objects (list): Hygienic standards]. Moscow, 2019. 156 p. (In Russ.).
- GOST 17.4.3.01-82. *Ochrana prirody. Počvy* [Nature protection. Soils. General requirements for sampling]. Moscow, Gosstandart Publ., 1983. 8 p. (In Russ.).
- Egorova D.O., Nazarova E.A., Demakov V.A. [New strains-degraders of lindane *Achromobacter* sp. NE1 and *Brevundimonas* sp. 242]. *Microbiologija*. V. 90. N 3 (2021): pp. 357-361. (In Russ.).
- Abhilash P.C., Srivastava S., Singh N. Comparative bioremediation potential of four rhizospheric microbial species against lindane. *Chemosphere*. V. 82. N 1 (2011): pp. 56-63.
- Camacho-Pérez B. et al. Enzymes involved in the biodegradation of hexachlorocyclohexane: A mini review. *Journal of Environmental Management*. V. 95 (2012): pp. S306–S318.
- Chuang S. et al. Microbial catabolism of lindane in distinct layers of acidic paddy soils combinedly affected by different water managements and bioremediation strategies. *Science of Total Environment*. V. 746 (2020): p. 140992
- Kiran S.C., Vrinda S.T. Genome sequence of *Ochrobactrum anthropi* strain SUBG007, a plant pathogen and potential xenobiotic compounds degradation bacterium. *Genom Data*. V. 4. N 11 (2017): pp. 116-117.

- Kumar D., Pannu R. Perspectives of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) biodegradation from the environment: a review. *Bioresources and Bioprocesses*. V. 5 (2018): p. 29.
- Lal R. et al. Biochemistry of Microbial Degradation of Hexachlorocyclohexane and Prospects for Bioremediation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. V. 74. N 1 (2010): pp. 58-80.
- Nagata Y. et al. Aerobic degradation of lindane (γ -hexachlorocyclohexane) in bacteria and its biochemical and molecular basis. *Applied and Microbiology Biotechnology*. V. 76. (2007): pp. 741-752.
- Revich B. et al. Dioxin exposure and public health in Chapaevsk, Russia. *Chemosphere*. V. 43 (2001): pp. 951-966.
- Saez J.M., García V.C., Benimeli C.S. Improvement of lindane removal by *Satreptomices* sp. M7 by using stable microemulsions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. V. 144 (2017): pp. 351-359.
- Ausbel F.M., Brent R., Kingston R.E., Moore D.D., Seidman J.G., Smith J.A., Struhl K., eds. Short protocols in molecular biology. 3rd ed. New York, John Wiley & Sons Publ., 1995. 450 p.
- Vijgen J. et al. Hexachlorocyclohexane (HCH) as new Stockholm Convention POPs – a global perspective on the management of lindane and its waste isomers. *Environmental Science Pollution Research*. V. 18 (2011): pp. 152-162.
- Willet K.L., Utrich E.M., Hites R.A. Differential toxicity and environmental facts of hexachlorocyclohexane isomers. *Environmental Science Technology*. V. 32 (1998): pp. 2197-2207.

Поступила в редакцию 12.03.2021

Об авторах

Назарова Эльмира Алиевна, аспирант лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии "Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН" - филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН
614081, г. Пермь, ул. Голева, 13;
e9026309777@gmail.com; +7(342)2808431

About the authors

Nazarova Elmira Alievna, post-graduate student of the Laboratory of Molecular Microbiology and Biotechnology
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS.
13, Golev str., Perm, Russia, 614081;
e9026309777@gmail.com; +7(342)2808431

Первова Марина Геннадьевна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории фторорганических соединений Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН
ORCID: 0000-0003-4620-5418
620137, г Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской, 22/20; pervova@ios.uran.ru; +7(343) 36234181

Егорова Дарья Олеговна, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии "Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН" - филиал ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН
ORCID: 0000-0001-8018-4687
614081, Пермь, ул. Голева, 13; daryao@rambler.ru; +7(342)2808431

Pervova Marina Gennadievna, candidate of chemistry, senior researcher of the laboratory of organofluorine compounds Postovsky Institute of Organic Synthesis Ural Branch of the RAS.
ORCID: 0000-0003-4620-5418
620137, Yekaterinburg, Sofya Kovalevskaya str., 22/20; pervova@ios.uran.ru; +7(343) 36234181

Egorova Darya Olegovna, candidate of biology, senior scientist researcher of the laboratory of molecular microbiology and biotechnology Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.
ORCID: 0000-0001-8018-4687
13, Golev str., Perm, Russia, 614081; daryao@rambler.ru; +7(342)2808431

Информация для цитирования:

Назарова Э.А., Первова М.Г., Егорова Д.О. Разнообразие культивируемых аэробных бактерий, выделенных из линдан-загрязненных почв // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2021. Вып. 2. С. 93–100. DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-93-100.

Nazarova E.A., Pervova M.G., Egorova D.O. [Diversity of culturable aerobic bacteria isolated from lindane-contaminated soils]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 2 (2021): pp. 93-100. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-93-100.

УДК 616.31-022:579

DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-101-109.

Н. А. Тунева, Н. В. Богачева

Кировский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Киров, Россия

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ И ПЕРИИМПЛАНТИТЕ. ОБЗОР

Представлен обзор литературы, посвящённой изучению микрофлоры при воспалительных заболеваниях пародонта. Патологический процесс в виде пародонтита, который часто является причиной потери зубов и постановки имплантатов, способствует прогрессированию воспалительного процесса в тканях пародонта. Проведена сравнительная оценка микробиоты при пародонтитах и периимплантитах, которые, по мнению отдельных авторов, по составу микроорганизмов являются разными экосистемами. Рассмотрены альтернативные взгляды на данный вопрос. На основании проанализированных научных данных сделано заключение о сходстве и различии микробиоты полости рта при пародонтитах и периимплантитах, а также при их сочетанном течении. Обоснована целесообразность оценки микробных патогенов в периимплантной зоне с целью разработки мер профилактики и лечения, направленных на долгосрочную выживаемость дентальных имплантатов.

Ключевые слова: микроорганизмы пародонтопатогены; дентальный имплантат; мукозит; периимплантит; пародонтит; факторы риска дентальной имплантации.

N. A. Tuneva, N. V. Bogacheva

Kirov State Medical University, Kirov, Russian Federation

Comparative evaluation of microbial contamination in and periodontitis and periimplantitis. Review

At the present stage of the development of dentistry, dental implantation occupies a leading place in the system of complex rehabilitation of patients with defects in the dentition. The success of dental implant placement depends on many factors. Among the significant reasons influencing the positive outcome of transplantation, the state of microbiocenosis of the oral cavity of patients should be noted. The periimplant zone is a favorable habitat for anaerobes. The pathological process in the form of periodontitis, which is often the reason for the loss of teeth and the placement of implants, contributes to the progression of the inflammatory process in the periodontal tissues. This article provides an overview of the scientific literature devoted to the study of microflora in inflammatory periodontal diseases. We conducted a comparative assessment of the microbiota in periodontitis and peri-implantitis, which, according to individual authors, are different ecosystems in terms of the composition of microorganisms. Alternative views on this issue were considered. Based on the analyzed scientific data, we made a conclusion about the similarities and differences in the oral microbiota in periodontitis and peri-implantitis, as well as in their combined course. We substantiated the feasibility of assessing microbial pathogens in the peri-implant area in order to develop preventive and therapeutic measures aimed at the long-term survival of dental implants.

Key words: microorganisms periodontal pathogens; dental implant; mucositis; peri-implantitis; periodontitis; risk factors for dental implantation.

На современном этапе дентальная имплантация стала широко применяться у различных групп пациентов.

Успех постановки дентальных имплантатов во многом зависит как от общего состояния организма пациента, так и от техники постановки имплантатов, мастерства и опыта врача-имплантолога и ведения пациента в постоперационном периоде.

Одной из ключевых причин развития периимплантита является инфицирование периимплантатных тканей микроорганизмами полости рта, которое происходит вследствие неудовлетворитель-

ной индивидуальной гигиены полости рта и образования зубной бляшки на поверхности супраструктуры имплантата.

Следует отметить такой немаловажный фактор риска при имплантации зубов, как наличие в анамнезе пациента пародонтита. В литературе описано множество доказательных фактов о связи этого заболевания с предрасположенностью к периимплантиту. Так, у больных с хроническим пародонтитом чаще можно встретить осложнения имплантации зубов.

Развитие периимплантита у лиц с воспалитель-

ными заболеваниями пародонта в анамнезе подтверждено результатами множества научных исследований, посвященных данной проблеме [Грудянов, Фоменков, 2009; Пашкова и др., 2013; Николаева и др., 2014; Николаев, Цепов, 2019].

Результаты клинических исследований доказали, что риск развития периимплантита у больных пародонтитом как в активной форме, так и в стадии ремиссии, выше в пять раз, чем у пациентов со здоровым пародонтом [Тунева, Богачева, Тунева, 2019].

Есть основания полагать, что микроорганизмы, вызывающие пародонтит и периимплантит, идентичны. В пародонтальных карманах зубов и зоне вокруг имплантатов обнаруживаются аналогичные патогенные микроорганизмы. Однако ряд авторов отрицают возможность инфицирования периимплантатной зоны от патологических очагов инфекции в тканях пародонта. Таким образом, вопрос изучения микробиоты при сочетанном течении двух данных процессов остается не до конца изученным [Гударьян, 2014; Мащенко и др., 2019].

Рассмотрим последовательно существующие

научные взгляды на особенности микробиоценоза у пациентов с воспалительными поражениями пародонта.

Пародонт – это комплекс тканей, окружающих и поддерживающих зубы в альвеолах верхней и нижней челюстей. В состав пародонта входят десны, периодонт, цемент зуба, надкостница и, собственно альвеолярные отростки,

Заболевания пародонта – воспалительно-деструктивные процессы, сопровождающиеся разрушением связочного аппарата зуба и альвеолярной кости. Пусковым механизмом возникновения воспаления тканей пародонта, как уже было отмечено выше, являются зубные отложения – мягкий зубной налет и зубная бляшка. Они образуются вследствие недостаточной гигиены полости рта, качественных и количественных изменений состава микрофлоры полости рта, анатомических особенностей строения зубочелюстной системы и снижения иммунитета на общем и местном уровне [Николаев, Цепов, 2019]. На рис. 1 представлен пародонт зуба в норме и при наличии воспалительных явлений.

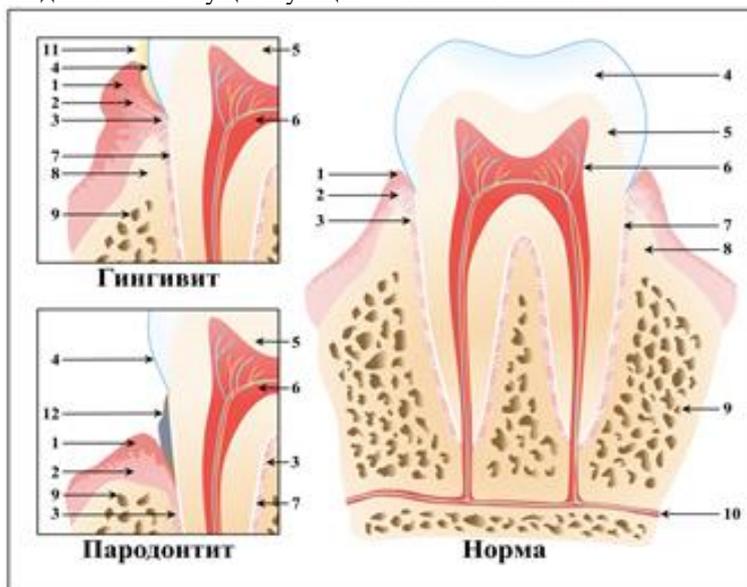


Рис. 1. Строение пародонта в норме и при заболеваниях пародонта:

1 – эпителиальный слой слизистой оболочки; 2 – собственная пластинка слизистой оболочки с подслизистой основой; 3 – волокна периодонта; 4 – эмаль; 5 – дентин; 6 – пульпа; 7 – цемент; 8 – кортикальная кость; 9 – губчатая кость; 10 – сосуды и нервы; 11 – мягкие зубные отложения; 12 – твердые зубные отложения

Существует множество концепций патогенеза воспалительных заболеваний пародонта: «теория бактериальной бляшки», «теория нарушения трофики тканей», «теория аутоиммунных процессов на ткани зуба», «цитокиновая концепция» [Орехова, 2004], при этом пародонтопатогенная микрофлора выступает в роли триггерного (пускового) механизма в активации патологического процесса [Ван Дер Бийль, 2014].

Различные виды микроорганизмов образуют ассоциации (био пленки) для совместного выжива-

ния в ротовой полости. В био пленках микробы находятся в тесном межвидовом взаимодействии, при этом возрастает патогенность микроорганизмов, происходит взаимное обеспечение их питательными веществами, обмен генетической информацией, формируются собственные сигнальные связи внутри колонии, повышается способность к адгезии и т.д. [Медицинская ..., 2016].

Среди микробных комплексов, играющих значимую роль в развитии заболеваний пародонта, наиболее важным для поддержания нормального

микробиоценоза полости рта, является «желтый комплекс», состоящий из следующих представителей рода *Streptococcus*: *S. viridans*, *S. sanguis*, *S. intermedius*, *S. mitis*, *S. oralis*. Бактерии «желтого комплекса» вступают в антагонизм с пародонтопатогенами и играют защитную роль. «Пурпурный комплекс» включает *Veillonella parvula* и *Actinomyces odontolyticus*. «Зеленый комплекс» представлен *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodent*, *Capnocytophaga* spp. Данное сочетание микробов в «зеленом комплексе» является причиной как заболеваний пародонта, так и прочих поражений слизистой оболочки рта и твердых тканей зубов. В «оранжевом комплексе» группируется множество различных видов: *Prevotella nigrescens*, *P. intermedia*, *Eubacterium nodatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Campylobacter rectus*, *C. spp.*, *Streptococcus constellatus*, *Fusobacterium periodonticum*, *F. nucleatum*. Среди перечисленных *F. nucleatum* имеет высокую коагрегативную способность относительно других бактерий и соединяет бактерии «желтого» и «оранжевого комплексов». «Красный комплекс» состоит из *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, и *Treponema denticola*. Эти микроорганизмы обнаруживаются в поддесневом пространстве и рассматриваются как основные пародонтопатогены в развитии заболеваний пародонта [Ximénez-Fyvie, Hafajee, Socransky, 2000].

Взгляды ученых на первостепенную роль микробных патогенов в развитии воспалительных заболеваний пародонта неоднозначны.

По мнению Л.Ю. Ореховой [2004], в пародонтальных карманах в 100% случаев выделяются микроорганизмы рода *Streptococcus* и *Peptostreptococcus*, в 96% случаев – *Staphylococcus*, в 68% – *Micrococcus*, *Peptococcus* и *Lactobacillus*, в 26% – *Actinomyces*, в 14–16% – *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Candida*.

А.В. Цимбалистов с соавт. [2010] доказали ведущую роль в этиологии локализованного агрессивного пародонтита микроорганизма *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Н.А. Агаева [2010], при исследовании мазков ротовой полости, установила увеличение численности представителей актиномицетов (*Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii*, *A. israeli*) при заболеваниях пародонта.

В.Н. Царев с соавт. считают, что для подтверждения диагноза заболеваний пародонта достаточно идентификации одного или двух видов бактерий: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum /periodonticum*, *Treponema denticola*, *Parvimonas micra* [Царев, Николаева, Ипполитов, 2017].

Л.П. Герасимова с соавт. [2017] полагают, что основной причиной, индуцирующей длительное хроническое воспаление с разрушением тканей десны, а в дальнейшем приводящих к резорбции костной ткани являются две группы резидентных микроорганизмов, присутствующих в «зубной» бляшке – кариесогенных (*Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguis*, *S. uberis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Rothia dentacariosa*, *Porphyromonas endodontalis*) и пародонтопатогенных (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Veillonella parvula*, *Actinomyces viscosus*, *Phopriionibacterium aches*, *Prevotella intermedia*).

Если подходить к вопросу значимых пародонтопатогенов с позиции их идентификации, то среди некультивируемых микроорганизмов полости рта, выделяемых при помощи молекулярно-генетического метода, по мнению А.Б. Чухловина и др. [Патент РФ ..., 2008], наиболее значимыми в развитии пародонтита являются 5 видов микроорганизмов: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*.

По данным F. Romano с соавт., у больных пародонтитом при использовании ПЦР *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* были выявлены, соответственно, в 72.2, в 61.1, в 55.6, в 50.0 и в 33.3% случаев [Romano, Barbui, Aimetti, 2007].

Установлено, что в процессе развития патологического процесса в пародонте, в том числе на фоне лечения, состав микрофлоры пародонтального кармана существенно меняется.

Э.Р. Тамарова с соавт. [Тамарова и др., 2020] в своих исследованиях выявили, что у больных хроническим пародонтитом до лечения в содержимом пародонтального кармана наиболее часто выявляются *Streptococcus mutans* – у 78.1%, *S. oralis* и *S. sobrinus*, соответственно, у 67.2 и 56.3% обследованных больных.

О.А. Зорина считает, что лидерами роста на фоне прогрессирования пародонтита являются *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* и *Tannerella forsythia*, демонстрирующие прогрессирующее увеличение относительно общей бактериальной массы более чем в 100 раз [Зорина и др., 2011].

В.Н. Царев с соавт. [Царев, Николаева, Ипполитов, 2017], кроме вышеперечисленных микроорганизмов, к патогенам прогрессирования относит *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Таким образом, мнение ученых относительно ведущих пародонтогенов неоднозначно. Однако большинство в развитии воспалительных заболе-

ваний пародонта среди культивируемых отдают приоритет *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, *S. mitis*, *S. uberis*, *Veionella parvulla*, *Rothia dentacariosa*, *Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii*, *A. israeli*, *Capnocytophaga* spp., *Enterobacter* spp., и др. Среди некультивируемых ведущая роль принадлежит – *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum*, *F. periodonticum*. Микроорганизмами-маркерами начала патологического процесса в пародонте можно рассматривать *Tannerella forsythia*, *Actinomyces israeli* и *Campylobacter rectus*, а маркерами

прогрессирования воспалительного процесса являются *Porphyromonas gingivalis*, *P. intermedia*, *Treponema denticola* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Проведем сравнительную оценку микробиоценоза у пациентов с пародонтитами и периимплантатами.

Воспалительная реакция тканей, окружающих остеоинтегрированный имплантат, сопровождается потерей опорной кости, что делает его сходным с хроническим пародонтитом [Esposito, Grusovin, Worthington, 2012].

На рисунке 2 представлено строение структур периимплантальных тканей в норме и при патологии.

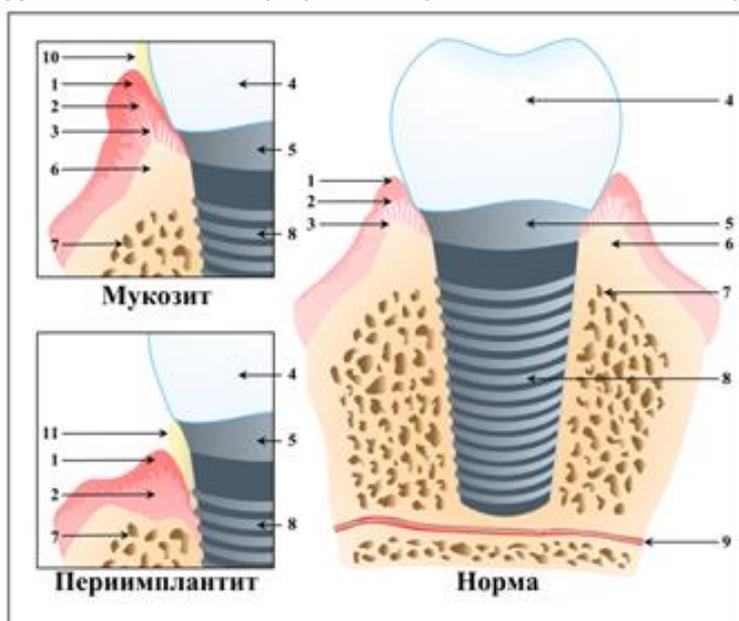


Рис. 2. Строение структур периимплантальных тканей в норме и при патологии:

1 – эпителиальный слой слизистой оболочки; 2 – собственная пластинка слизистой оболочки с подслизистой основой; 3 – коллагеновые волокна; 4 – коронка; 5 – абатмент; 6 – кортикальная кость; 7 – губчатая кость; 8 – имплантат; 9 – сосуды и нервы; 10, 11 – бактериальная бляшка

Однако патология в виде периимплантита более сложна. Это связано прежде всего со структурными особенностями периимплантной зоны. Так, Canullo L, Penarrocha-Oltra D с соавт. высказали предположение, что отсутствие пародонтальной связки у имплантата делает ткани периимплантальной зоны подвижными, соответственно это приводит к большей травматизации, а следовательно, повышает адгезивные возможности микроорганизмов, способствуя контаминации ими периимплантных зон и быстрому прогрессированию периимплантита [Canullo et al., 2015].

Поверхностный оксидный слой имплантата требует определенного физико-химического состояния для обеспечения биосовместимости имплантата с окружающими его тканями. Периимплантная зона является благоприятным местом обитания анаэробов. Патологический процесс в виде пародонтита, который часто является причиной потери зубов, способствует возникновению или прогрессированию воспалительного процесса в тканях, окружающих имплантат. При этом анаэробная инфекция создает кислую среду вокруг имплантата и является физико-химической угрозой для стабильности оксидного слоя имплантата, что может вызвать нарушение соединения имплантата с десной и костью и в дальнейшем потерю окружающих и поддерживающих имплантат тканей.

По этим причинам знание микробиологического профиля, связанного с периимплантитом, является одним из факторов, необходимых для профилактики и успешного лечения периимплантитов, особенно у лиц, страдающих пародонтитом в анамнезе.

Анализ литературных источников свидетельствует о том, что микробиоценоз периимплантитов

и пародонтитов различается по составу и количеству микроорганизмов [Агаева, 2010; Гударьян, 2014; Николаева и др., 2014; Lafaurie et al., 2017].

Существуют явные различия между результатами исследования субгингивальной биопленки у пациентов, больных периимплантитом со здоровым пародонтом и больных пародонтитом и периимплантитом. Изучение микробиома субгингивальной биопленки позволяет определить некультивируемые бактерии, которые колонизируют имплантаты при периимплантите. Как здоровые имплантаты, так и периимплантиты колонизируются пародонтопатогенными микроорганизмами. При этом периимплантит, по сравнению с пародонтитом, представляет собой гетерогенную инфекцию большей сложности, вызванную преимущественно некультивируемыми грамотрицательными видами бактерий.

По данным научных исследований ученых Университета Эль Боске (Колумбия), частоту обнаружения методом ПЦР пародонтопатогенов полости рта у пациентов с типичными формами периимплантита можно представить следующим образом: *A. actinomycetemcomitans* – в 52.3%; *P. intermedia* – 42.8%; *P. gingivalis* – в 33.3%; *T. forsythia* – в 23.8% случаев [Lafaurie et al., 2017].

Однако *P. intermedia*, *C. rectus* и *T. forsythia* встречались более часто при пародонтите, чем при периимплантите. Также при периимплантите чаще чем при пародонтите обнаруживались *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *C. albicans*. В то время как *P. micra*, *P. intermedia* и *F. nucleatum* были в более высокой пропорции в консорциумах при периимплантите в сравнении со здоровыми имплантатами.

При сравнении бактериальных сообществ периимплантитов и пародонтитов также наблюдались различия. Периимплантит характеризовался большим бактериологическим разнообразием (*Peptococcus* spp., *Mycoplasma* spp., *Campylobacter* spp., *Butyrivibrio* spp., *S. mutans*, *Eubacterium* spp., *Porphyromonas* spp., *Achromobacter xylosoxidans*), чем пародонтит, и содержанием более высоких концентраций микроорганизмов в анализируемом биологическом материале. При этом микробный состав периимплантных зон представлен в исследованиях следующими некультивируемыми микроорганизмами: *Eubacterium nodatum*, *E. brachy*, *Eubacterium saphenum*, *E. minutum*, *Filifactor alocis*, *Slackia exigua*, *Parascardovia denticolens*, *Dialister invisus*, *Eubacterium infirmum*, *Actinomyces cardiffensis* и *Gemella sanguinis*, а также грамотрицательными анаэробами, такими как *Mitsuokella* spp., *Leptotrichia hofstadii*, *Kingella denitrificans*, *Treponema lecithinolyticum*. Микроорганизмы оранжевого комплекса, такие как *P. intermedia* и

Streptococcus spp., также ассоциировались с периимплантитом, что указывает на важную роль этих микроорганизмов в этиологии периимплантита [Lafaurie et al., 2017].

Интересно мнение Т.Л. Шевеллы [2020], которая выдвигает предположение о роли *Helicobacter pylori* в развитии периимплантита. Проведенные исследования показали присутствие *H. pylori* в ротовой жидкости и в содержимом костной раны, где находились дезинтегрированные дентальные имплантаты.

Н.И. Быкова с соавт. при изучении микробной обсемененности периимплантных зон при периимплантите отмечают увеличение уровня обсемененности на 2–3 порядка по сравнению с результатами микробиологического анализа пациентов с интактной периимплантатной зоной опорных имплантатов. Из 15 обследованных у 8 больных (53.3%), по результатам проведенного обследования, были выявлены аэробно-анаэробно-грибковые ассоциации микроорганизмов, у 7 (46.6%) – аэробно-анаэробные. Во всех случаях доминировали облигатные анаэробы: у 10 больных (66.6%) – *Fusobacterium nucleatum* со степенью обсемененности 10^7 – 10^8 КОЕ/мл; у 6 больных (40%) – *Prevotella oralis* со степенью обсемененности 10^6 – 10^8 КОЕ/мл; у 5 больных (33.3%) – *Porphyromonas* spp. со степенью обсемененности 10^8 КОЕ/мл. Кроме того, в исследуемом материале выделены стафилококки – у 13 пациентов (86.6%), стрептококки – у 12 пациентов (80.0%), различные виды энтеробактерий – у 7 больных (46.6%), пептострептококки – у 2 пациентов (13.3%), патогенные дрожжевые грибы – у 8 больных (53.3%) [Быкова, Будзинский, Максимова, 2017].

Исследования D. Ziebolz [2017] в дифференциальной диагностике периимплантита выявили преобладание микроорганизмов вида *Treponema denticola* в десневой жидкости.

По мнению Н.А. Панахова, существует бесспорная связь между формированием биопленки на поверхности имплантата и инициированием воспалительного процесса вокруг остеоинтегрированных зубных имплантатов. При этом наблюдается увеличение микробной обсемененности периимплантных зон в динамике после постановки имплантатов. Через месяц после имплантации в образцах из десневой борозды зуба концентрация *Treponema denticola* и *Tannerella forsythia* увеличивается на 19.1 и 5.8%, соответственно. Через 12 месяцев распространенность *Tannerella forsythia* и *Prevotella intermedia* в периимплантатной борозде по сравнению с их количеством в десневой борозде, была выше на 24.0 и 13.9% соответственно. Сравнительный анализ распространенности микроорганизмов в период между первым и двенадцатым месяцами показал возрастание *Prevotella*

intermedia в местах имплантации в среднем на 15.3%; *Tannerella forsythia* – на 39.2 ($p < 0.05$) [Guerra et al., 2016; Pan et al., 2017; Панахов, Махмудов, 2018].

В работах же И.С. Машенко и др. [2019], возникновение и развитие воспалительно-деструктивного процесса в периимплантной зоне в отсроченном периоде после дентальной имплантации связывают с воздействием специфической пародон-

тальной инфекции, состоящей обычно из комплекса 6–7 пародонтопатогенных бактерий, оказывающих свой повреждающий эффект в любой комбинации.

По результатам проанализированных источников литературы, нами разработана схема, отражающая сходство и различие микробиоты полости рта при пародонтитах и периимплантитах (рис. 3).

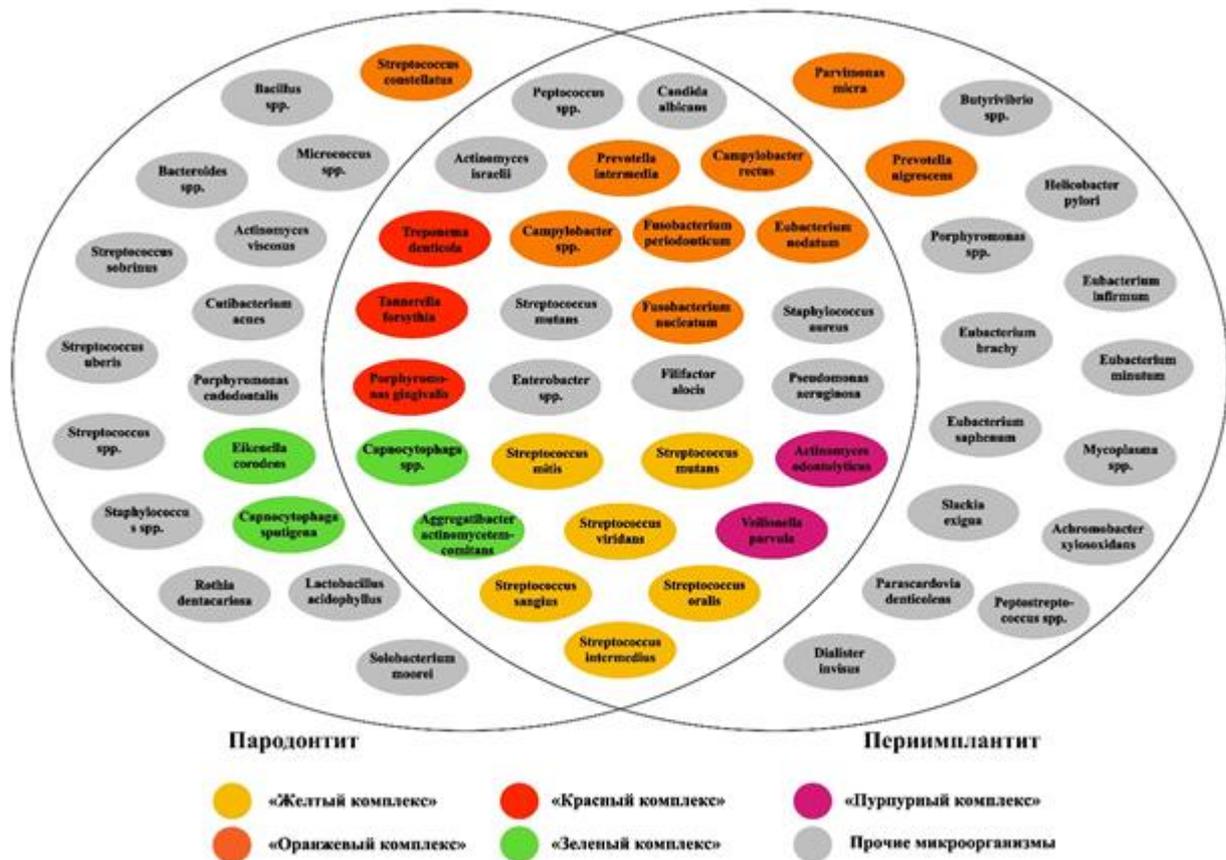


Рис. 3. Сходство и различие микробной флоры при пародонтите и периимплантите

Таким образом, проведенный анализ данных литературы показал значимость участия микробиоты в развитии и прогрессировании воспалительных изменений пародонта. В связи с ростом частоты использования зубных имплантатов существует необходимость изучения спектра этиологически значимых микроорганизмов в развитии периимплантитов с целью разработки мер профилактики и лечения, поскольку долгосрочная выживаемость дентальных имплантатов зависит от состава микробиоты, окружающей имплантаты.

Исследование проведено в рамках Грантовой программы ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России «Университетский научный грант» в рамках проекта «Создание коллекции микроорганизмов, статистически значимых в развитии периимплантитов, для разработки иммунобиологи-

ческого препарата направленного действия» № 1-1.1/2021.

Список литературы

- Агаева Н.А. Микробиологическая и иммунологическая характеристика пародонтитов и гингивитов с актиномикотической этиологией // Международный медицинский журнал. 2010. № 3. С. 103–106.
- Быкова Н.И., Будзинский Н.Э., Максимова Е.М. Роль микробной флоры в патогенезе периимплантита и воспалительных заболеваний тканей пародонта // Научный альманах. 2017. № 2–3. С. 319–325.
- Ван Дер Бийль П. Взаимосвязь заболеваний пародонта и сердечно-сосудистой системы // Проблемы стоматологии. 2014. № 6. С. 116–119.

- Герасимова Л.П. и др. Особенности состояния стоматологического и микробиологического статуса полости рта у лиц с воспалительными заболеваниями пародонта в зависимости от возраста // Уральский медицинский журнал. 2017. № 7. С. 5–9.
- Грудянов А.И., Фоменков Е.В. Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта // Грудянов А.И. Заболевания пародонта. М.: МИА, 2009. С. 9–43.
- Гударьян А.А. Роль аэробной и анаэробной микрофлоры в развитии дентального мукозита и дентального периимплантита // Вісник проблем біології і медицини. 2014. № 2 (1). С. 132–135.
- Зорина О.А. и др. Соотношение патогенных представителей микробиоценоза пародонтальных карманов при пародонтите разной степени тяжести // Acta Naturae. 2011. № 2 (9). С. 106.
- Мащенко И.С. и др. Факторы развития и современные методы профилактики и лечения ранних и отсроченных воспалительных осложнений дентальной имплантации (обзор) // Медицинские науки. 2019. № 10-3(56). С. 234–250.
- Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / под ред. В.В. Зверева, А.С. Быкова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 816 с.
- Николаев А.И., Цепов Л.М. Практическая терапевтическая стоматология. М.: Медпресс-информ, 2019. 928 с.
- Николаева Е.Н. и др. Ассоциативные связи пародонтопатогенных видов бактерий I и II порядков в смешанных биопленках у пациентов с периимплантитами // Стоматология для всех. 2014. № 4. С. 38–42.
- Орехова Л.Ю. Заболевания пародонта. М.: Поли Медиа Пресс, 2004. С. 218–220.
- Панахов Н.А.О., Махмудов Т.Г.О. Уровень стабильности зубных имплантатов в различные сроки функционирования // Проблемы стоматологии. 2018. Т. 14, № 1. С. 89–93.
- Пат. РФ № 2324182. Чухловин А.Б. и др. Способ диагностики патологических изменений микрофлоры полости рта. Заявка от 13.11.2006. Оpubл. 10.05.2008. Бюл. № 13. С. 8.
- Пашкова Г.С. и др. Особенности микрофлоры полости рта у пациентов с воспалительными заболеваниями пародонта // Лечение и профилактика. 2013. № 4 (8). С. 74–80.
- Тамарова Э.Р. и др. Создание молекулярно-генетической тест-системы для ранней диагностики и оценки эффективности лечения воспалительных заболеваний пародонта // Клиническая лабораторная диагностика. 2020. Т. 65, № 1. С. 55–60.
- Тунева Н.А., Богачева Н.В., Тунева Ю.О. Проблемы дентальной имплантации // Вятский медицинский вестник. 2019. № 2 (62). С. 86 – 93.
- Царев В.Н., Николаева Е.Н., Инполитов Е.В. Пародонтопатогенные бактерии – основной фактор возникновения и развития пародонтита // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2017. № 5. С. 101–112.
- Цимбалитов А.В. и др. Особенности микрофлоры пародонтальных карманов при агрессивных формах пародонтита // Институт стоматологии. 2010. № 49 (4). С. 73–75.
- Шевела Т.Л. *Helicobacter pylori* – как этиологический фактор развития периимплантита (клинический пример) // Здоровоохранение Кыргызстана. 2020. № 2. С. 11–16.
- Canullo L. et al. Microbiological assessment of the implant-abutment interface in different connections: cross-sectional study after 5 years of functional loading // Clinical Oral Implants Research. 2015. Vol. 26, № 4. P. 426–434.
- Esposito M., Grusovin M.G., Worthington H.V. Treatment of peri-implantitis: what interventions are effective? A Cochrane systematic review // European Journal of Oral Implantology. 2012. № 5. P. 21–41.
- Guerra E. et al. The Impact of Conical and Nonconical Abutments on Bacterial Infiltration at the Implant-Abutment Interface // International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry. 2016. Vol. 36, № 6. P. 825–831.
- Lafaurie G.I. et al. Microbiome and Microbial Biofilm Profiles of Peri-Implantitis: A Systematic Review // Journal of Periodontology. 2017. Vol. 88, № 10. P. 1066–1089.
- Pan S. et al. Profiling of subgingival plaque biofilm microbiota in adolescents after completion of orthodontic therapy // PLoS ONE. 2017. Vol. 12, № 2. P. 2–13.
- Romano F., Barbui A., Aimetti M. Periodontal pathogens in periodontal pockets and in carotid atherosclerotic plaques // Minerva Stomatologica. 2007. № 4 (56). P. 169–179.
- Ximénez-Fyvie L.A., Haffajee A.D., Socransky S.S. Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis // Journal of Clinical Periodontology. 2000. Vol. 10 (27). P. 722–732.
- Ziebolz D. Microbiological and aMMP-8 findings depending on periimplant disease in patients undergoing supportive implant therapy // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2017. Vol. 88, № 1. P. 47–52.

References

- Agaveva N.A. [Microbiological and immunological characteristics of periodontitis and gingivitis with actinomycotic etiology]. *Meždunarodnyj medicinskij žurnal*. N 3 (2010): pp. 103-106. (In Russ.).
- Bykova, N.I., Budzinsky N.E., Maksimova E.M. [The role of microbial flora in the pathogenesis of peri-

- implantitis and inflammatory diseases of periodontal tissues]. *Nauchnyj al'manach*. N 2-3 (2017): pp. 319-325. (In Russ.).
- Canullo L. et al. Microbiological assessment of the implant-abutment interface in different connections: cross-sectional study after 5 years of functional loading. *Clinical Oral Implants Research*. V. 26, N 4 (2015): pp. 426-434.
- Dmitrakova N.R., Redinova T.L., Tarasova Y.G. [Frequency of isolation of periodontal pathogens and other risk factors in patients with periodontitis]. *Aktual'nye voprosy stomatologii i čeljustno-licevoj chirurgii* [Topical issues of dentistry and maxillofacial surgery. materials of mezregion. scientific-practical conf.]. Izhevsk, 2010, pp. 31-33. (In Russ.).
- Esposito M., Grusovin M.G., Worthington H.V. Treatment of peri-implantitis: what interventions are effective? A Cochrane systematic review. *European Journal of Oral Implantology*. N 5 (2012): pp. 21-41.
- Gerasimova L.P. et al. [Features of the state of the dental and microbiological status of the oral cavity in persons with inflammatory periodontal diseases depending on age]. *Uralskij medicinskij žurnal*. N 7 (2017): pp. 5-9. (In Russ.).
- Grigoryan A.S., Grudyanov A.I., Rabukhina N.A. *Bolezni parodonta. Patogeneza, diagnostika, lečenje* [Periodontal disease. Pathogenesis, diagnosis, treatment. A guide for doctors]. Moscow, MIA Publ., 2004. 320 p. (In Russ.).
- Guerra E. et al. The Impact of Conical and Nonconical Abutments on Bacterial Infiltration at the Implant-Abutment Interface. *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*. V. 36, N 6 (2016): pp. 825-831.
- Lafaurie G.I. et al. Microbiome and Microbial Biofilm Profiles of Peri-Implantitis: A Systematic Review. *Journal of Periodontology*. V. 88, N 10 (2017): pp 1066-1089.
- Mashchenko I.S. et al. [Development factors and modern methods of prevention and treatment of early and delayed inflammatory complications of dental implantation (review)]. *Evrasijskoe naučnoe ob'edinenie*. N 10-3(56) (2019): pp. 234-244. (In Russ.).
- Nikolaev A.I., Tsepov L.M. *Praktičeskaja terapevtičeskaja stomatologija* [Practical therapeutic dentistry]. Moscow, Medpress-inform Publ., 2019. 928 pp. (In Russ.).
- Orekhova L.Yu. *Zabolevanija parodonta* [Periodontal disease]. Moscow, Poli Media Press Publ., 2004. P. 218-220. (In Russ.).
- Pan S. et al. Profiling of subgingival plaque biofilm microbiota in adolescents after completion of orthodontic therapy. *PLoS ONE*. V. 12, N 2 (2017): pp. 2-13.
- Panahov N.A.O., Makhmudov T.G.O. [The level of stability of dental implants at different periods of functioning]. *Problemy stomatologii*. V. 14, N 1 (2018): pp. 89-93. (In Russ.).
- Pashkova G.S. et al. [Features of the oral microflora in patients with inflammatory periodontal diseases]. *Lečenje i profilaktika*. N 4 (8) (2013): pp. 71-76. (In Russ.).
- Romano F., Barbui A., Aimetti M. Periodontal pathogens in periodontal pockets and in carotid atherosclerotic plaques. *Minerva Stomatologica*. № 4 (56) (2007): pp. 169-179.
- Russian Patent N 2324182. Chukhlovina A.B. et al. A method for diagnosing pathological changes in the microflora of the oral cavity. Application from 13.11.2006. Publ. 10.05.2008. Byul. N. 13. P. 8. (In Russ.).
- Shevela T.L. [Helicobacter pylori - as an etiological factor in the development of peri-implantitis (clinical example)]. *Zdravoochranenie Kyrgyzstana*. N 2 (2020): pp. 11-16. (In Russ.).
- Tamarova E.R. et al. [Creation of a Molecular Genetic Test System for Early Diagnosis and Evaluation of the Efficacy of Treatment of Inflammatory Periodontal Diseases]. *Kliničeskaja laboratornaja diagnostika*. V. 65, N 1 (2020): pp. 55-60. (In Russ.).
- Tsarev V.N., Nikolaeva E.N., Ippolitov E.V. [Periodontal pathogenic bacteria - the main factor in the onset and development of periodontitis]. *Žurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. N 5 (2017): pp. 101-112. (In Russ.).
- Tsimbalistov A.V. et al. [Features of the microflora of periodontal pockets in aggressive forms of periodontitis]. *Institut stomatologii*. N 49 (4) (2010): pp. 73-75. (In Russ.).
- Van der Beill, P. [Relationship between periodontal diseases and the cardiovascular system]. *Problemy stomatologii*. N 6 (2014): pp. 116-119. (In Russ.).
- Ximénez-Fyvie L.A., Haffajee A.D., Socransky S.S. Microbial composition of supra- and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*. V. 10 (27) (2000): pp. 722-32.
- Ziebolz D. Microbiological and aMMP-8 findings depending on periimplant disease in patients undergoing supportive implant therapy. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. V. 88, N 1 (2017): pp. 47-52.
- Zverev V.V. *Medicinskaja mikrobiologija, virusologija i immunologija* [Medical microbiology, virology and immunology]. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2014, pp. 802-805. (In Russ.).

Об авторах

Тунева Наталья Александровна, аспирант кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России
ORCID: 0000-0001-7972-544X
119331, Москва, пр. Вернадского, 15;
tuneva.n.a@yandex.ru; 8-9226614748

Богачева Наталья Викторовна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России
ORCID: 0000-0002-7021-6232
610033, Киров, ул. Московская, 36;
bogacheva70@mail.ru; 8-9292907757

About the authors

Tuneva Natalya Aleksandrovna, postgraduate student of the Department of Microbiology and Virology Kirov State Medical University of the Ministry of Health of Russia.
ORCID: 0000-0001-7972-544X
119331, Russia, Moscow, Av. Vernadsky, 15;
tuneva.n.a@yandex.ru; 8-9226614748

Bogacheva Natalya Viktorovna, Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of Microbiology and Virology Kirov State Medical University of the Ministry of Health of Russia.
ORCID: 0000-0002-7021-6232
610033, Russia, Kirov, str. Moscow, 36;
bogacheva70@mail.ru; 8-9292907757

Информация для цитирования:

Тунева Н.А., Богачева Н.В. Сравнительная оценка микробной контаминации при пародонтите и периимплантите // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2021. Вып. 2. С. 101–109. DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-101-109.

Tuneva N.A., Bogacheva N.V. [Comparative evaluation of microbial contamination in and periodontitis and periimplantitis]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 2 (2021): pp. 101-109. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-101-109.

ЗООЛОГИЯ

УДК 598.285

DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-110-118.

О. А. Одинцев^a, А. А. Одинцева^b

^a Омский государственный педагогический университет, Омск, Россия

^b Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия

ПТИЦЫ СЕМЕЙСТВА ТРЯСОГУЗКОВЫЕ НА ТЕРРИТОРИИ ОМСКА И ОМСКОЙ ОБЛАСТИ: ВИДОВОЕ БОГАТСТВО, ЧИСЛЕННОСТЬ И РАСПРЕДЕЛЕНИЕ

Проанализированы материалы круглогодичных учетов птиц, проведенных авторами в г. Омске с сентября 2006 по август 2009 гг. в 9 местообитаниях, а также на территории 4 муниципальных районов Омской обл. с 1.06 по 10.08.2020 г. Изучено видовое богатство, осуществлен анализ численности и распределения, указано обилие трясогузковых на территории исследуемых муниципальных районов. Приведены видовые очерки, при описании которых особое внимание уделено характеру и срокам пребывания, а также распределению птиц по местообитаниям. Установлено, что отмеченные представители данного семейства обитают во всех изученных биотопах, но некоторые виды распределены неравномерно.

Ключевые слова: птицы; семейство трясогузковые; численность; распределение; видовое богатство; Омская область.

О. А. Odintsev^a, А. А. Odintseva^b

^a Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russian Federation

^b Institute of Systematics and Ecology of Animals, RAS, Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation

Birds of the family *Motacillidae* in Omsk and in the Omsk province: species richness, numbers and distribution

The materials of year-round bird counts conducted by the authors in Omsk from September 2006 to August 2009 in nine habitats, as well as on the territory of four municipal districts of the Omsk Province from June 1 to August 10, 2020 have been analyzed. The species richness, the analysis of the species numbers and distribution was carried out, and the abundance of *Motacillidae* on the territory of the studied administrative districts is indicated. Species sketches are given, in the compilation of which special attention is paid to the nature and duration of stay, as well as the distribution of birds by habitat. It was found that the encountered representatives of this family inhabit all studied biotopes, but some species are not evenly distributed.

Key words: birds; *Motacillidae*; species numbers; species distribution; species richness; Omsk Province.

Введение

Опубликованные сведения о трясогузковых Западной Сибири и Омской обл., содержащиеся в крупных орнитологических сводках [Гладков, 1954; Балацкий, 2000; Редькин, 2000; Соловьев, 2005; Рябицев, 2008; Птицы городов..., 2012, Ковалевский и др., 2017] весьма малочисленны и содержат слишком краткую или несколько устаревшую информацию по распределению и численности этих птиц в Омской обл.

Пожалуй, самые основные и наиболее важные аспекты жизни птиц заключаются в территориальном распределении и обилии, без которых немислимы охранные мероприятия, регулирование чис-

ленности массовых видов, изучение экологической составляющей жизни пернатых, их практическое использование и др. Это является причиной тому, что основное внимание при описании видовых очерков уделено характеру и срокам пребывания, а также распределению птиц по местообитаниям.

Материал и методы исследования

Район исследования расположен на юге Западно-Сибирской равнины и ограничен административными границами Омской обл. На территории области представлены три природные зоны: лесная, лесостепная и степная. Лесостепью занята большая часть площади региона – 51.1%.

В основу настоящей работы положены материалы количественных учетов птиц, проведенных в г. Омске на постоянных и строго фиксированных маршрутах с 1.09 2006 г. по 31.08 2009 г. в 9 местообитаниях. Также были проведены учёты на не строго фиксированных маршрутах в 21 местообитании, расположенных на территории 4 муниципальных районов Омской обл. в лесостепной и степной зонах (Калачинский, Оконешниковский, Павлоградский и Русско-Полянский) с 1.06 по 10.08 2020 г.

Маршрутные учеты проводили без ограничения ширины трансекты, с последующим раздельным пересчетом данных на площадь, по средним групповым дальностям обнаружения интервальным методом [Равкин, 1967; Равкин, Ливанов, 2008]. В каждом из выделенных местообитаний с учетом пройдено не менее 5 км, а в г. Омске такие учеты были проведены каждую половину месяца на протяжении трёх лет.

В статье используется русскоязычная орнитонимика, принятая в монографии Е.А. Коблика и В.Ю. Архипова [2014]. При описании населения использовали предложенную А.П. Кузякиным [1962] шкалу балльных оценок обилия птиц (число особей/км²). Показатели обилия приведены в скобках, как правило, в среднем за указанный период.

Обработка материалов и все основные расчеты проведены с использованием пакета программ банка данных лаборатории зоологического мониторинга ИСиЭЖ СО РАН.

Результаты и их обсуждение

Семейство Трясогузковые (*Motacillidae*).

Мелкие стройные птицы, обликом похожие на трясогузку и конька. Характерная особенность птиц этого семейства – покачивание хвостом. Крайние рулевые белые или с белыми внешними опахалами, что хорошо видно в полете и, особенно, на взлете. Полная линька наблюдается раз в году, в основном во второй половине лета, зимой происходит частичная предбрачная линька, когда сменяется мелкое оперение. Обитатели преимущественно открытых пространств, опушек или негустых лесов. Все перелетны. Кормятся на земле, собирая насекомых и других беспозвоночных и при этом, постоянно продвигаясь мелкими шажками, поэтому не любят густой травы. В конце лета и осенью едят и семена. В семействе около 50 видов, распространенных по всему свету, кроме Антарктиды и ряда островов [Рябицев, 2008, 2014]. В фауне России – 27 видов [Коблик, Архипов, 2014]. Это коньки и трясогузки, относящиеся соответственно к двум подсемействам.

Подсемейство Коньки – *Anthinae*

Группа видов, нередко представляющих труд-

ности в определении, особенно в осеннем наряде. Зачастую важнейшие признаки внешне малоприметны с расстояния. Один из признаков – окраска низа спины, который сидящая птица обычно закрывает концами сложенных крыльев (на иллюстрациях крылья коньков намеренно изображены слегка опущенными). Дополнительные затруднения создает индивидуальная изменчивость, а также неопределенность признаков («более рыжий, менее оливковый...»). У некоторых внешне похожих видов, обитающих по соседству, песни и другие звуковые сигналы также звучат похоже. В трудных случаях следует использовать комплекс признаков. Самки, за некоторым исключением (краснозобый конек), внешне не отличаются от самцов. Насекомоядны, корм собирают, передвигаясь шагом по земле [Рябицев, 2008, 2014].

В орнитофауне Омской обл., по литературным данным и нашим исследованиям, отмечено 6 видов коньков, три из которых занесены в Красную книгу Омской обл.

Степной конёк – *Anthus richardi Vieillot, 1818*

В Омской обл. гнездящийся, перелетный вид. Распространен в Центральной и Восточной Азии, на север – до Южной Якутии и на юг – до Южного Китая. Северо-западный угол ареала заходит к нам на юго-восток Западной Сибири, где этот вид довольно обычен. Небольшие гнездовые поселения и отдельные пары встречаются на западе до Тюмени. Северо-западная часть ареала приходится на Омскую обл. [Рябицев, 2008].

Включен в Красную книгу Омской обл. Статус – 3-я категория. Вид, имеющий малую численность и спорадически распространенный на значительных территориях [Красная книга..., 2015].

В середине XX в. степной конёк обычен на гнездовании на пустырях г. Омска [Гынгазов, 1981]. В конце 1980-х, с уменьшением площади пустырей и активной застройкой города, встречался лишь на пролёте [Соловьёв, 2005]. Позднее нами и другими исследователями степной конёк на территории города не отмечен. Нами был обнаружен на суходольных лугах в Оконешниковском р-не Омской обл. в окрестностях пос. Язово на границе с Новосибирской обл. Во время летних учетов в 2020 г. был там редок (0.3).

В конце XX в. в южной лесостепи во время пролета во второй половине мая был редок. В настоящее время граница ареала вслед за расширением земледелия заметно сместилась к северу [Красная книга..., 2015].

На прилегающей к району исследований территории, во время послегнездовых кочёвок и на осеннем пролёте в районе оз. Чаны (Новосибирская обл.) этот вид встречается довольно регулярно [Чернышов, 2012].

Полевой конёк – *A. campestris* (Linnaeus, 1758)

В Омской обл. гнездящийся, перелетный вид. Распространен от Средиземноморья и юга Балтики до Северной Индии и Монголии. В нашем регионе – степная зона и частично лесостепь. В большинстве степных районов обычные птицы, севернее немногочисленны или редки. Известны залеты до тундры [Рябицев, 2008].

В конце 1980-х гг. встречался на суходольных лугах омского аэропорта и строительных площадках с пустырями и берёзовыми колками, где он в среднем за лето был многочислен (26 и 11). Позднее нами и другими орнитологами полевой конёк на территории города не наблюдался, что, скорее всего, связано с уменьшением площади пустырей и активной застройкой города. Однако в начале XXI в. особей этого вида наблюдали значительно севернее Омска в Муромцевском р-не (к юго-востоку от с. Муромцево). На сухой луговине 2 июня 2000 г. видели двух особей [Калякин и др., 2000]. Включен в Красную книгу Омской обл. Статус – 3-я категория. Вид, имеющий малую численность и спорадически распространенный на значительных территориях [Красная книга..., 2015].

В среднем по южной лесостепи полевой конек в течение лета очень редкий вид. В Омской обл. не более нескольких десятков одиночных особей и гнездящихся пар [Красная книга..., 2015].

Луговой конёк – *A. pratensis* (Linnaeus, 1758)

Залётный вид. По одним данным вблизи пойменных водоёмов левобережья Иртыша в г. Омске регулярно гнезился [Кассал, 2003]. Есть более старые сведения о гнездовании лугового конька южнее тайги, в лесостепи, но, скорее всего, они ошибочны, или южная граница немного сдвинулась. На пролёте встречается всюду до южных границ региона [Рябицев, 2008]. Нами во время учётов, как на территории города, так и в исследованных районах луговой конёк не был встречен. В 2005 г., в конце августа, на пролёте одна особь этого конька была поймана на агробиологической станции [Соловьёв, 2005].

Лесной конёк – *A. trivialis* (Linnaeus, 1758)

В Омской обл. гнездящийся, перелетный вид. Распространен в Евразии от ее крайнего запада до Восточной Сибири. В основном лесная зона, а также лесостепь, отчасти – степи и горы. В нашем регионе – от крайнего юга до северной тайги. Одни из наиболее обычных, во многих местностях – многочисленные птицы [Рябицев, 2008].

Лесной конек в большинстве исследуемых нами местообитаний в летний период обычен (г. Калачинск (4 особи/км²), поля с полезащитными полосами (8), малый поселок (4) разнотравный луг (9)), многочисленен в полях-перелесках (18) и осиново-

березовых колках (10). Прилет в наш регион отмечается в апреле. Населяет облесенные местообитания. Гнездо устраивает на земле. В кладке 4–6 яиц. В обследованном нами гнезде, найденном на опушке осиново-березового леса близ пос. Атак в 2009 г., находилось 6 белых яиц. Массовый отлет происходит в сентябре.

В середине XX в. отмечен на гнездовании в крупных парках и на кладбищах г. Омска [Гынгазов, 1981]. По данным учётов 1986–1988 гг., в среднем за лето был многочисленным видом новых пойменных и старых городских парков, строительных площадок с пустырями и берёзовыми колками (12–34), обычным видом – садов (4) и редким – на кладбищах (0.3). Встречался практически во всех рекреационных зонах города [Соловьёв, 2005]. В городе нами был отмечен на гнездовании только в пойменных парках и на кладбищах. Прилетает в город в мае, нами первые особи лесного конька были отмечены 13 мая 2008 г. в пойменных парках. В мае во время пролёта лесной конёк обычен в пойменных парках и на кладбищах (3 и 4), в июне на гнездовании редок в пойменных парках (0.8), на кладбищах – обычен (6).

Во время послегнездовых кочёвок в августе встречается только в парках (3) и держится там до середины сентября (0.7). В городе наблюдается нерегулярно и не каждый год.

Такое снижение показателей обилия лесного конька в городе может быть обусловлено не только возросшей антропогенной нагрузкой на большую часть облесённых местообитаний города, но и значительными межгодовыми флуктуациями численности, характерными для лесного конька; при этом амплитуда колебания показателей обилия достаточно велика. Так, по июньским данным, межгодовая флуктуация численности лесного конька в смешанных и мелколиственных лесах новосибирского Академгородка достигает 9-кратных пределов [Цыбулин, 1985]. С 1999 по 2011 гг. и вплоть до 2016 г. [Жимулев, 2017] наблюдается снижение показателей обилия лесного конька в новосибирском Академгородке.

Пятнистый конёк – *A. hodgsoni* Richmond, 1907

В Омской обл. гнездящийся, перелетный вид. Распространен почти по всей лесной Сибири, Дальнему Востоку и отчасти Южной Азии. Ареал по северной тайге доходит к западу до Белого моря. В Приобье и восточнее многочисленны или обычны, западнее до Урала немногочисленны, кое-где обычны, в европейской части ареала – редки. На юг доходят до лесостепи. Северный предел распространения проходит по лесотундре. Залетают до тундры [Рябицев, 2008]. Включен в Красную книгу Омской обл. Статус – 3-я категория. Вид, имеющий малую численность и спорадически рас-

пространенный на значительных территориях [Красная книга..., 2015].

По одним данным пятнистый конёк иногда гнездится близ пойменных водоёмов левобережья Иртыша в городе [Кассал, 2003]. По другим данным, этот конёк – типичный представитель орнитофауны сибирской тайги и в Омской обл. отмечен только на севере её в лесной зоне, в сосновых и кедровых лесах [Якименко, 1998; Рябицев, 2008].

Распространен крайне неравномерно и локально, считается таежным видом [Рябицев, 2001]. Наибольшая численность была отмечена в Усть-Ишимском р-не в рямовых сосняках и осоко-травных и осоко-сфагновых кедрачах бассейна р. Большая Тава – 6.2–15.3 токующих самцов/км²; в Знаменском р-не в ягодниковых и рямовых сосняках бассейна р. Шиш встречался единично – до 1.8 токующих самцов/км² [Якименко, 1998].

В Омской обл. численность составляет несколько сотен отдельных особей и гнездящихся пар [Красная книга..., 2015].

Краснозобый конёк – *A. cervinus* (Pallas, 1811)

Пролётный вид. Пролёт у г. Омска отмечен 23.04 1962 г. [Гынгазов, Миловидов, 1977]. Один краснозобый конёк был пойман на агробиологической станции 17.09 2001 г. [Соловьёв, 2005].

Подсемейство Трясогузки *Motacillinae*

Стройные длиннохвостые птицы размером несколько меньше воробья, с характерной манерой покачивать хвостом, с крупно-волнистым полетом.

Практически все виды предпочитают околоводные местообитания, где в основном кормятся, собирая насекомых и других мелких беспозвоночных; взлетая, могут ловить насекомых в воздухе. Определение взрослых трясогузок нередко вызывает затруднения из-за внутривидовой изменчивости и гибридизации между подвидами и видами. Но при определении молодых вопросы возникают гораздо чаще, так как птицы до самого отлета имеют неброскую окраску, сходную у разных видов [Рябицев, 2014].

Желтая трясогузка – *Motacilla flava* Linnaeus, 1758

В Омской обл. гнездящийся, перелетный вид. Распространен практически по всей Европе, большей части Азии (кроме самого юга и северных тундр), Аляске. В нашем регионе – от южных границ до южной тундры. В большинстве районов – обычная птица, местами многочисленна, в некоторых районах не найдена. Распространение различных форм следует рассматривать отдельно [Рябицев, 2008].

В середине XX в. эта трясогузка изредка гнездилась на пустырях г. Омска [Гынгазов, 1981]. На

юго-востоке Омской обл. (Оконешниковский р-он, окрестности с. Крестики) желтая трясогузка отмечена во время весеннего пролёта 27.05 2008 г. [Жуков, 2011].

Желтая трясогузка – обычный, перелетный, гнездящийся вид Омской обл. Встречается повсеместно. Наиболее «сухопутна» среди всех изученных видов трясогузок и не тяготеет к увлажненным местообитаниям. Не избегает трансформированных ландшафтов и агроценозов. В наш район прилетает в апреле, чуть позднее белой трясогузки. Гнездо устраивает в различных местах, в том числе и в техногенных. Нам известно гнездование желтой трясогузки в трубе забора с успешным выводом. Яиц в кладке от 3 до 8. Вид в процессе синантропизации. С середины августа наблюдаются кочевки, которые переходят к концу месяца в отлеты. Желтая трясогузка отмечена во всех исследованных местообитаниях за пределами города, за исключением осиново-березовых колков, повсеместно обычна, в некоторых биотопах многочисленна (поля с полезащитными полосами (18), разнотравный луг (35), поля-перелески (17), луга-покосы с полезащитными полосами (27), луга-выпаса (26) и др.).

Основная масса птиц в г. Омск прилетает в начале мая. Первые особи желтой трясогузки в г. Омске были отмечены нами 7.05 2009 г. на суходольных лугах аэропорта. Во время пролёта в первой половине мая многочисленна в садах, на суходольных лугах омского аэропорта и строительных площадках с пустырями (16–31).

К гнездованию приступает во второй половине мая. Около Омска кладка из 6 сильно насиженных яиц найдена 6 июня 1973 г. [Гынгазов, Миловидов, 1977]. Гнездование длится с середины мая до конца июня, хотя у отдельных особей может заканчиваться в июле. В это время желтая трясогузка многочисленна на строительных площадках с пустырями и на суходольных лугах аэропорта (33 и 45), в садах и пойменных парках обычна (5 и 7). Вылет молодых приходится в основном на вторую половину июня или начало июля. В июле на лугах аэропорта желтой трясогузки становится в 1.4 раза больше, на строительных площадках с пустырями – в 1.7 раза. В парках и садах остаётся по-прежнему обычным видом (8). В период кочёвок и постепенного отлёта в августе часть трясогузок покидает городские местообитания, предпочитая более кормные агроценозы лесопольных ландшафтов.

В сентябре в городе встречается на суходольных лугах аэропорта и на строительных площадках с пустырями и колками (10 и 12). В 1973 г. последняя встреча желтой трясогузки была зафиксирована 19 сентября [Соловьёв, 2005]. Нами в 2009 г. на строительных площадках с пустырями особь этого вида была отмечена 22 сентября.

По результатам наших наблюдений повсеместно в городе отмечается снижение показателей обилия этого вида по сравнению с данными конца 80-х гг. прошлого века. В 7 раз на суходольных лугах; в 3 раза на строительных площадках с пустырями; а в новом пойменном парке – в 7.6 раз (с 46 до 6). Желтая трясогузка предпочитает отдаленные от застроенной части города местообитания с наименьшей антропогенной нагрузкой. Межгодовые колебания показателей обилия желтой трясогузки в период с 2006–2009 гг. незначительны.

Желтоголовая трясогузка – *M. citreola* Pallas, 1776

Гнездящийся перелетный и пролетный вид. Ареал состоит из нескольких изолированных участков в Евразии. В пределах нашего региона выделяются два таких участка: северный (*M. c. citreola*) – в северной тайге и тундре, по горам спускается южнее; южный (*M. c. werae*) – от южных границ региона до южной и средней тайги. Распространение очень неравномерное, местами обычна и даже многочисленна, в других районах отсутствует или редка. Возможно, в горах Урала северный и южный участки ареала смыкаются [Рябицев, 2008]. По последним данным эти два подвида (*M. c. citreola* и *M. c. werae*) разделили на два вида: желтоголовая и малая желтоголовая трясогузки [Коблик, Архипов, 2014].

Желтоголовая трясогузка – обычный, перелетный, гнездящийся вид Омской обл. По району исследования – обычна. Повсеместно имеет меньшую плотность и обилие в сравнении с желтой трясогузкой. Симпатричный с желтой трясогузкой вид. В противоположность желтой более влаголюбива и избегает трансформированных ландшафтов, а также более ограничена в выборе местообитаний, чем объясняется ее, относительно желтой, меньшая плотность. Время прилетов совпадает с таковым желтой трясогузки. Гнездо устраивает на земле, часто в очень увлажненных местах. В кладке от 3 до 8 яиц. В 2019 г. нами было обнаружено гнездо желтоголовой трясогузки в залеме тростника на берегу водоема у уреза воды, которое содержало 6 сероватых яиц, близ пос. Гауф. Отлет схож с таковым у желтой трясогузки.

В середине XX в. эта трясогузка была многочисленной на гнездовании на заболоченных участках г. Омска [Гынгазов, 1981]. По данным учётов 1986–1988 гг. в среднем за лето желтоголовая трясогузка была многочисленна на городских низинных пойменных болотах (58), обычна на стройках с пустырями, старых парках и суходольных лугах аэропорта (2–9). Нами была отмечена эта трясогузка 12.06 2012 г. в пойменном парке и на пойменных водоёмах левобережья Иртыша. Снижение показателей обилия желтой трясогузки в городе за последние десятилетия связаны с сокращением

площади пустырей, осушением большей части городских болот и возросшей антропогенной нагрузкой на рекреационную часть города. В последние годы желтоголовых трясогузок изредка встречаются в парковой зоне города [Самсонова, Колпакова, 2014]. Также этот вид был отмечен 26.05 2012 г. на территории пойменных парков, о чём свидетельствуют фотографии из личного архива орнитолога-любителя О. Броскина.

Горная трясогузка – *M. cinerea* Tunstall, 1771

Возможно, ранее гнездящийся перелётный и пролётный вид. В середине XX в. горная трясогузка редка на гнездовании на обрывах речных террас г. Омска [Гынгазов, 1981]. В Омской обл. В.В. Якименко [1998] горную трясогузку в гнездовой период отмечал в поймах южно-таежных рек. Нами во время исследований эта трясогузка не встречена.

Белая трясогузка – *M. alba* Linnaeus, 1758

Гнездящийся перелётный и пролётный вид. Распространение – Евразия (кроме крайнего юга) и небольшие пятна ареала в С. Африке и на Аляске. Почти вся территория нашего региона. В большинстве районов обычная птица [Гладков, 1954; Рябицев, 2008].

Белая трясогузка – обычный, перелетный, гнездящийся вид Омской обл. Наиболее и всесторонне изученный вид среди этой группы. В наш регион прилетает во второй декаде апреля. Синантропный вид. Встречается повсеместно, тяготеет к воде. Гнездо располагает в самых различных местах, в том числе и на антропогенных субстратах. В 2020 г. нами обнаружено гнездо с 6 яйцами в капоте эксплуатирующегося трактора. В кладке от 4 до 7 яиц. Отлет растянут, начинается уже в третьей декаде августа. Белая трясогузка отмечена в большинстве исследуемых местообитаний, где обычна, например, в полях-перелесках (4–6), полях с полезащитными полосами (1), малых поселках (1–9), крупных поселках (1–4), в г. Калачинске (13) – многочисленна.

В г. Омске в середине XX в. эта трясогузка обычна на гнездовании во всей его застроенной части [Гынгазов, 1981]. Прилёт в Омске отмечен с первой половины апреля. Нами первые особи белых трясогузок встречены 14.05 2007 г. у небольших озёр в пойменных парках.

Во время прилёта и пролёта в апреле и первой половине мая белая трясогузка многочисленна на бетонированной набережной Иртыша, в старых городских и новых пойменных парках и массивах 2–5-этажной застройки (10–21), обычна в массивах новой жилой застройки, садах, старой индивидуальной застройки, на строительных площадках с пустырями и колками и кладбищах (5–7).

Максимальное обилие белой трясогузки в гнездовой период со второй половины мая и в июне отмечено на набережной Иртыша и строительных площадках с пустырями и колками (41). Многочисленна она также в это время в массивах старой многоэтажной и индивидуальной застройки, старом городском парке, застроенных садах, суходольных лугах омского аэропорта и кладбищах (10–32), обычна в районах новой многоэтажной застройки и пойменных парках (8 и 9).

В послегнездовой период и во время кочёвок с середины июля и в августе белой трясогузки стало в 2 раза больше на набережной Иртыша (86), в 2.3 раза на суходольных лугах аэропорта (73), в 1.3 раза на строительных площадках с пустырями (55). В это время она также многочисленна в массивах индивидуальной застройки, кладбищах, старых парках и районах 2–5-этажной жилой застройки (10–20), обычна в новых пойменных парках и массивах многоэтажной застройки (9 и 5).

В сентябре также встречается повсеместно, но во всех исследованных нами городских местообитаниях показатели обилия резко сокращаются. Все также белая трясогузка многочисленна в садах, суходольных лугах, строительных площадках с пустырями и колками, массивах индивидуальной застройки и на набережной Иртыша (11–35), обычна в пойменных и старых городских парках, массивах новой и старой многоэтажной застройки и кладбищах (5–9). Самая поздняя встреча белой трясогузки нами была отмечена 12.10 2008 г.

В среднем за лето по данным учётов 1986–1988 гг. обилие белой трясогузки максимально в массивах старой многоэтажной застройки (63), что в 3.3 раза выше, чем по данным наших учётов. Во всех остальных исследованных городских местообитаниях показатели обилия белой трясогузки несколько возросли за последние десятилетия или остались на прежнем уровне: в 30 раз на набережной Иртыша (с 2 до 63), в 7 раз в садах (с 4 до 28), в 4 раза на кладбищах (с 5 до 19). Встречается белая трясогузка повсеместно, предпочитает как старые массивы застроенной части города, сады, строительные площадки с пустырями, так и суходольные луга территории омского аэропорта и бетонированную набережную р. Иртыш в городе, особенно во время послегнездовых кочёвок и осеннего пролёта. Вероятнее всего, под воздействием возросшей антропогенной нагрузки на городские местообитания происходит адаптация белой трясогузки к новым условиям жизни в городской среде, возникают изменения в поведенческих реакциях, приспособление к новым местам гнездования.

На территории Омского Прииртышья за всю историю орнитологических наблюдений было отмечено на гнездовании всего 8 видов семейства трясогузковых – это 4 вида подсемейства коньков

(пятнистый конек, степной конек, лесной конек, полевой конек) и 4 вида подсемейства трясогузок (белая трясогузка, желтая трясогузка, желтоголовая трясогузка и горная трясогузка), а также 2 вида на пролёте (луговой и краснозобый коньки). Нами в ходе настоящих наблюдений отмечено пребывание на исследуемой территории 5 видов трясогузковых (степной конек, лесной конек, белая трясогузка, желтая трясогузка, желтоголовая трясогузка). Отсутствие в учетах зеленого (пятнистого) конька и горной трясогузки связано с географией исследований, не включающих в себя лесную зону, с которой, в свою очередь, и связан ареал этих видов. Северная граница ареала полевого конька, проходящая по самой южной части Омской обл. и его «краснокнижный» статус частично объясняют отсутствие этого вида в учетах.

Из пяти зарегистрированных видов трясогузковых 4 вида это обычные, гнездящиеся, перелетные виды Омского Прииртышья и один вид (степной конек) гнездящийся, перелетный вид, занесенный в Красную книгу Омской области.

Анализируя полевые данные, мы выявили, что трясогузковые распределены по району изысканий неравномерно, но встречаются практически во всех исследуемых местообитаниях, как в естественных, так и в трансформированных ландшафтах. Видовое богатство трясогузковых меняется в зависимости от ландшафта (урочища): так, в некоторых исследуемых биотопах (поля-перелески, поля с полевосадовыми полосами) отмечены 3 вида трясогузковых, а в других (осиново-березовые колки) – только один. Это связано с экологическими особенностями исследуемых видов: лесной конек предпочитает облесенные местообитания и избегает полностью открытых, несмотря на то, что гнездо устраивает на земле, а белая, желтая и желтоголовая трясогузки, наоборот, привержены к более открытым. Имеются отличия и в распределении трех видов подсемейства трясогузок, заключающиеся в том, что белая трясогузка тяготеет к урбанизированным территориям (поселки и города), желтая – к открытым трансформированным (луга-выпасы, поля с полевосадовыми полосами), а желтоголовая – к более увлажненным (судольные солончаковые луга близ водоемов).

Заключение

В ходе мониторинговых исследований на территории Калачинского, Оконешниковского, Павлоградского и Русско-Полянского муниципальных районов Омской обл. и г. Омске обнаружено 5 видов птиц семейства трясогузковые (лесной конек, степной конек, белая трясогузка, желтая трясогузка и желтоголовая трясогузка). Все виды, за исключением степного конька, в среднем по району ис-

следований обычны, в некоторых местообитаниях многочисленны.

Степной конек – вид, занесенный в Красную книгу Омской обл.; внесен в Красную книгу МСОП, находится под защитой Бернской конвенции. В среднем по району – чрезвычайно редок. В Омской обл. проходит западная граница его ареала. Требуется дальнейшего мониторинга и охраны.

Исследование поддержано Программой фундаментальных научных исследований (ФНИ) государственных академий наук на 2021–2025 гг., (AAAA-A16-1161214101 - FWGS-2021-0002).

Список литературы

- Балацкий Н.Н. Ревизия трясогузковых Motacillidae авифауны России // Русский орнитологический журнал. 2000. Т. 9, № 117. С. 17–26.
- Гладков Н.А. Трясогузковые Motacillidae // Птицы Советского Союза. М.: Сов. наука, 1954. Т. 5. С. 594–690.
- Гынгазов А.М. Влияние хозяйственной деятельности на птиц Западно-Сибирской равнины. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1981. 168 с.
- Гынгазов А.М., Миловидов С.П. Орнитофауна Западно-Сибирской равнины. Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1977. 350 с.
- Жимулев И.Ф. Орнитофауна Новосибирского Академгородка. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2017. 512 с.
- Жуков В.С. Жёлтая *Motacilla flava* и берингийская *M. tschutschensis* трясогузки на территории Верх-Тарского нефтяного месторождения (Новосибирская область) // Русский орнитологический журнал. 2011. Т. 20, № 691. С. 1899–1906.
- Калякин М.В. и др. Авифаунистические находки в Омской области // Материалы к распространению птиц Урала, Приуралья и Западной Сибири. Екатеринбург: Урал, 2000. С. 92–94.
- Кассал Б.Ю. Орнитоценоз «Птичьей гавани» // Изучение экосистемы природного парка «Птичья гавань»: сб. науч. статей. Омск: Изд-во ОмГПУ, 2003. С. 105–131.
- Коблик Е.А., Архипов В.Ю. Фауна птиц стран Северной Евразии в границах бывшего СССР: списки видов. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2014. 171 с.
- Ковалевский А.В. и др. Распространение и характер пребывания трясогузок рода *Motacilla* на юго-востоке Западной Сибири (Кузнецко-Салаирская горная область) // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2017. Вып. 39. С. 107–126.
- Красная книга Омской области / отв. ред. Г.Н. Сидоров, Н.В. Пликина. Омск: Изд-во ОмГПУ, 2015. 636 с.
- Кузякин А.П. Зоогеография СССР // Учен. зап. / Моск. обл. пед. ин-т им. Н.К. Крупской. 1962. Т. 109. 182 с.
- Птицы городов России / отв. ред. В.М. Храбрый. СПб.; М.: Т-во науч. изд. КМК, 2012. 511 с.
- Равкин Ю.С. К методике учёта птиц в лесных ландшафтах // Природа очагов клещевого энцефалита на Алтае. Новосибирск, 1967. С. 66–75.
- Равкин Ю.С., Ливанов С.Г. Факторная зоогеография: принципы, методы и теоретические представления. Новосибирск: Наука, 2008. 205 с.
- Редькин Я.А. Критические замечания по поводу статьи Н.Н. Балацкого Ревизия трясогузковых Motacillidae авифауны России // Русский орнитологический журнал. 2000. Т. 9, № 118. С. 3–13.
- Рябицев В.К. Птицы Сибири: справочник-определитель. М.; Екатеринбург: Кабинетный ученый, 2014. Т. 1. 438 с.
- Рябицев В.К. Птицы Урала, Приуралья и Западной Сибири. Екатеринбург: Изд-во УрГУ, 2001. 605 с.
- Рябицев В.К. Птицы Урала, Приуралья и Западной Сибири: справочник-определитель. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2008. 634 с.
- Самсонова Л.С., Колтакова Т.Ю. Орнитофауна рекреационной зоны города Омска // VI Международная студенческая электронная научная конференция «Студенческий научный форум». 2014. URL: <https://files.scienceforum.ru/pdf/2014/1888.pdf> (дата обращения: 15.02.2021).
- Соловьев С.А. Птицы Омска и его окрестностей. Новосибирск: Наука, 2005. 296 с.
- Цыбулин С.М. Птицы диффузного города (на примере новосибирского Академгородка). Новосибирск: Наука, 1985. 166 с.
- Чернышов В.М. Материалы по линьке степного конька *Anthus richardi* // Русский орнитологический журнал. 2012. Т. 21, № 776. С. 1674–1676.
- Якименко В.В. Материалы к распространению птиц в Омской области // Материалы к распространению птиц на Урале, в Приуралье и Западной Сибири. Екатеринбург, 1998. С. 192–221.

References

- Balatsky N.N. [Revising of the family Motacillidae in avifauna of Russia]. *Russkij ornitologičeskij žurnal*. V. 9, N 117 (2000): pp. 17–26. (In Russ.).
- Gladkov N.A. Motacillidae. *Pticy Sovetskogo Sojuza*. T. 5 [Birds of USSR. V. 5]. Moscow, Sovetskaja nauka Publ., 1954, pp. 594–690. (In Russ.).
- Gyngazov A.M. *Vlitanie chozjajstvennoj dejatel'nosti na ptic Zapadno-Sibirskoj ravniny* [The influence of economic activity on the birds of the West Siberian Plain]. Tomsk, Izdatel'stvo Tomskogo Universiteta Publ., 1981. 168 p. (In Russ.).
- Gyngazov A.M., Milovidov S.P. *Ornitofauna Zapadno-Sibirskoj ravniny* [Avifauna of the West Siberian Plain]. Tomsk, Izdatel'stvo Tomskogo Uni-

- versiteta Publ., 1977. 350 p. (In Russ.).
- Zhimulev I.F. *Ornitofauna Novosibirskogo Akademgorodka* [The avifauna of the Novosibirsk Academgorodok]. Novosibirsk, SB RAS Publ., 2017. 512 p. (In Russ.).
- Zhukov V.S. [The yellow *Motacilla flava* and Alaskan yellow *M. tschutschensis* wagtails in Verh-Tarskoe oilfield (Novosibirsk Oblast)]. *Russkij ornitologičeskij žurnal*. V. 20, N 691 (2011): pp. 1899-1906. (In Russ.).
- Kalyakin M.V., Flade M., Gissing B., Kerner S., Kloskovsky Y., Kozulin A.V., Krogulets Y., Morozov V.V., Rislavi D., Soloviev S.A., Winter S. [Avifaunistic finds in the Omsk region]. *Materialy k rasprostraneniu ptic Urala, Priural'ja i Zapadnoj Sibiri* [Materials on the bird distributions in the Urals, Priuralye and Western Siberia]. Yekaterinburg, Ural Publ., 2000, pp. 92-94. (In Russ.).
- Kassal B.Yu. [Ornithocenosis of "Ptichja Gavan"]. *Izučenie ekosistemy prirodnogo parka "Ptich'ja gavan"* [Study of the ecosystem of the natural park "Ptichja Gavan"]. Omsk, Izdatelstvo OmGPU Publ., 2003, pp. 105-131. (In Russ.).
- Koblik E.A., Arkhipov V.Yu. *Fauna ptic stran Severnoj Evrazii v granicach byvšego SSSR* [Avifauna of the States of Northern Eurasia (former USSR): Checklists]. Moscow, KMK Publ, 2014. 171 p. (In Russ.).
- Kovalevskiy A.V., Red'kin Y.A., Gashkov S.I., Ilyashenko V.B. [Distribution and nature of *Motacilla* species presence in the southeast of Western Siberia (the Kuznetsk-Salair mountain area)]. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologia*. Jss. 39 (2017): pp. 107-126. (In Russ.).
- Sidorov G.N., Plikina N.V., eds. *Krasnaja kniga Omskoj oblasti* [Red Data Book of the Omsk Region]. Omsk, OmGPU Publ., 2015. 636 p. (In Russ.).
- Kuzyakin A.P. [Zoogeography of the USSR]. *Učenyje zapiski Moskovskogo oblastnogo pedagogičeskogo instituta imeni N.K. Krupskoj*. V. 109 (1962): pp. 1-182. (In Russ.).
- Khrabryi V.M., ed. *Pticy gorodov Rossii* [Birds of the Cities of Russia]. St-Petersburg, Moscow, KMK Publ., 2012. 511 p. (In Russ.).
- Ravkin Yu.S. [To the method of counting birds in forest landscapes]. *Priroda očagov kleščevogo èncefalita na Altae* [Nature of foci of tick-borne encephalitis in Altai]. Novosibirsk, 1967, pp. 66-75. (In Russ.).
- Ravkin Yu.S., Livanov S.G. *Faktornaja zoogeografi-ja* [Factorial zoogeography: principles, methods and theoretical concepts]. Novosibirsk, Nauka Publ., 2008. 205 p. (In Russ.).
- Red'kin Y.A. [Critical remarks on the article by N.N. Balatsky "Revision of wagtails Motacillidae of the avifauna of Russia"]. *Russkij ornitologičeskij žurnal*. V. 9, N 118 (2000): pp. 3-13. (In Russ.).
- Ryabitsev V.K. *Pticy Sibiri* [Birds of Siberia: guide-key]. Moscow, Yekaterinburg, Cabinetnyj Učenyj Publ., 2014. V. 1. 438 p. (In Russ.).
- Ryabitsev V.K. *Pticy Urala, Priural'ja i Zapadnoj Sibiri* [Birds of the Urals, Urals and Western Siberia]. Yekaterinburg, UrGU Publ., 2001. 605 p. (In Russ.).
- Ryabitsev V.K. *Pticy Urala, Priural'ja i Zapadnoj Sibiri* [Birds of the Urals, Priuralye and Western Siberia: Reference Guide]. Yekaterinburg, UrGU Publ., 2008. 634 p. (In Russ.).
- Samsonova L.S., Kolpakova T.Yu. [The avifauna of recreational zone of the city of Omsk]. [VI International Student Electronic Scientific Conference "Student Scientific Forum"]. 2014. Available at: <https://files.scienceforum.ru/pdf/2014/1888.pdf>. (In Russ.).
- Soloviev S.A. *Pticy Omska i ego okrestnostej* [Birds of Omsk and its environs]. Novosibirsk, Nauka Publ., 2005. 296 p. (In Russ.).
- Tsybulin S.M. *Pticy diffuznogo goroda* [Birds of a diffuse city (on the example of the Novosibirsk Academgorodok)]. Novosibirsk, Nauka Publ., 1985. 166 p. (In Russ.).
- Chernyshov V.M. [Materials on the molting of the steppe pipit *Anthus richardi*]. *Russkij ornitologičeskij žurnal*. V. 21, N 776 (2012): pp. 1674-1676. (In Russ.).
- Yakimenko V.V. [Materials for the distribution of birds in the Omsk region]. *Materialy k rasprostraneniu ptic Urala, Priural'ja i Zapadnoj Sibiri* [Materials on the bird distributions in the Urals, Priuralye and Western Siberia]. Yekaterinburg, 1998, pp. 192-221. (In Russ.).

Поступила в редакцию 11.03.2021

Об авторах

Одинцев Олег Александрович, кандидат биологических наук, доцент, зав. кафедрой биоогии и биологического образования ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет»

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0069-3065>
644099, Омск, наб. Тухачевского, 14;
odintsevoa@mail.ru; +79081020405

Одинцева Антонина Александровна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории зоологического мониторинга ФГБУН Институт систематики и экологии животных СО РАН

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7867-6639>
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 11;
toska8@mail.ru; +79231762057

About the authors

Odintsev Oleg Aleksandrovich, candidate of biology, associate professor, head of Department of biology and biological education Omsk State Pedagogical University.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0069-3065>
14, Naberezhnaya Tukhachevskogo, Omsk, Russia, 644099; odintsevoa@mail.ru; +79081020405

Odintseva Antonina Aleksandrovna, candidate of biology, junior researcher of Zoomonitoring Laboratory

Institute of Systematics and Ecology of Animals, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7867-6639>
11, Frunze str., Novosibirsk, Russia, 630091;
toska8@mail.ru; +79231762057

Информация для цитирования:

Одинцев О.А., Одинцева А.А. Птицы семейства трясогузковые на территории Омска и Омской области: видовое богатство, численность и распределение // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2021. Вып. 2. С. 110–118. DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-110-118.

Odintsev O.A., Odintseva A.A. [Birds of the family *Motacillidae* in Omsk and in the Omsk province: species richness, numbers and distribution]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 2 (2021): pp. 110-118. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-110-118.

ГЕНЕТИКА

УДК 575.1

DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-119-127.

А. Х. Абд Али^а, О. В. Бочарова^б, Т. П. Шкурат^а, М. А. Шкурат^с, М. А. Амелина^а

^а Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

^б Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

^с ООО «Наука», Ростов-на-Дону, Россия

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ *Ser447Ter* ГЕНА *LPL* И *rs9939609* ГЕНА *FTO* С ОЖИРЕНИЕМ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ В ПОПУЛЯЦИИ РОСТОВА-НА-ДОНУ

Цель исследования – изучение ассоциации полиморфизмов *Ser447Ter* (C-G) гена *LPL* и *rs9939609* гена *FTO* с ожирением у детей и подростков Ростовской обл. (Россия). В исследовании «случай-контроль» изучена взаимосвязь полиморфизмов *rs9939609* гена *FTO* и *Ser447Ter* (*S447X*) гена *LPL* с ожирением у 520 детей и подростков обоего пола в возрасте от 3 до 18 лет: основную группу составили 370 детей и подростков с ожирением, а контрольную – 150 детей и подростков без ожирения. Генотипирование полиморфизмов выполнено с использованием ПЦР-аллель-специфичных праймеров. Полиморфизмы генов *FTO* (*rs9939609*) и *LPL* (*Ser447Ter*) в образцах донорской ДНК были типизированы электрофоретическим методом с применением коммерческих тест-систем компании «Литех» (Россия). Выявлена связь полиморфизма *rs9939609* гена *FTO* с ожирением, установлены различия ($p < 0.05$) между основной и контрольной группами по частоте встречаемости генотипа *AA* ($p = 0.0079$) и аллеля *A* ($p = 0.005$; OR 0.67; 95% CI 0.51–0.88) полиморфизма *rs9939609* гена *FTO*. Определены комбинации генотипов с повышенным и пониженным риском ожирения в детской и подростковой популяции г. Ростова-на-Дону. Показаны антагонистические взаимоотношения полиморфизмов *rs9939609* гена *FTO* и *Ser447Ter* гена *LPL*. С использованием метода MDR установлены комбинации генотипов с повышенным и пониженным риском ожирения в детской и подростковой популяции г. Ростова-на-Дону.

Ключевые слова: *LPL Ser447Ter*; *FTO rs9939609*; дети и подростки; ожирение.

А. Н. Abd Ali^а, О. В. Bocharova^б, Т. П. Shkurat^а, М. А. Shkurat^с, М. А. Amelina^а

^а South Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation

^б Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

^с ООО «Science», Rostov-on-Don, Russian Federation

Association of *Ser447Ter* polymorphisms of the *LPL* gene and *rs9939609* of the *FTO* gene with obesity in children and adolescents in the Rostov-on-Don population

The aim of this study was to study the correlation between the *Ser447ter* (C-G) polymorphisms of the *LPL* gene and *rs9939609* of the *FTO* gene and obesity in children and adolescents of the Rostov region (Russia). A case-control study examined the relationship between the *rs9939609* polymorphisms of the *FTO* gene and *Ser447Ter* (*S447X*) of the *LPL* gene with obesity in 520 children and adolescents of both sexes aged 3 to 18 years: the main group consisted of 370 obese children and adolescents, and the control group - 150 children and adolescents without obesity. Genotyping of polymorphisms *T / A rs9939609* of the *FTO* gene and *C / G Ser447Ter* of the *LPL* gene was performed using PCR- allele-specific primers. Polymorphisms of the *FTO rs9939609* and *LPL Ser447Ter* genes in donor DNA samples were typed by the electrophoretic method using commercial test systems from the Litekh research and production company (Russia). The relationship between the *rs9939609* polymorphism of the *FTO* gene and obesity was revealed, differences ($P < 0.05$) were established between the main and control groups in the frequency of occurrence of the *AA* genotype ($P = 0.0079$) and allele *A* ($P = 0.005$; OR 0.67; 95% CI 0.51–0.88) of the *rs9939609* polymorphism of the *FTO* gene. Combinations of genotypes with increased and decreased risk of obesity in the child and adolescent population of Rostov-on-Don were determined. Antagonistic relationships between the *rs9939609* polymorphisms of the *FTO* gene and *Ser447Ter* of the *LPL* gene are shown. Using the MDR method, combinations of genotypes with an increased and decreased risk of obesity in the child and adolescent population of Rostov-on-Don were established.

Key words: *LPL Ser447Ter*; *FTO rs9939609*; children and adolescents; obesity.

Распространенность ожирения возросла в 3 раза за последние 50 лет [Organization, 2016]. В мире более 1 млрд взрослых имеют избыточный вес и почти 300 млн – диагноз ожирения [Lin et al.,

2017]. Ожирение является серьезной медицинской и экономической проблемой, поскольку повышает риск развития гипертонии, сахарного диабета и ряда других заболеваний [Velazquez, Arovian, 2018]. В настоящее время установлено, что причинами ожирения, кроме нарушения пищевого поведения и малоподвижного образа жизни, является и генетическая предрасположенность [Goodarzi, 2018]. При этом наиболее распространенными являются полигенные варианты ожирения.

В настоящее время установлен ряд полиморфизмов генов, связанных с риском ожирения. Среди них наиболее исследованы полиморфизмы гена *FTO*, который расположен в хромосоме 16 (16q12.2); его мРНК экспрессируется в основном в гипоталамусе. Ген *FTO* участвует в регуляции пищевого поведения посредством его влияния на нейромодуляторные системы. Несмотря на то, что выявлена связь между однонуклеотидными полиморфизмами *FTO* (*SNP*) и ожирением, однако полиморфные участки этого гена различаются в разных популяциях [Ehrlich, Friedenber, 2016]. В том числе, среди значительных генетических факторов риска ожирения называют носительство полиморфизма *rs9939609* гена *FTO*: аллель *A* и генотип *AA* связывают с избыточной массой тела [Al-Serri et al., 2018; Mozafarizadeh et al., 2019; Priliani et al., 2020].

Другим геном, определяющим повышенный риск ожирения, является ген липопротеинлипазы (*LPL*), играющий ключевую роль в метаболизме липопротеинов [Eshghinia et al., 2014; Baturin et al., 2016]. Липопротеинлипаза гидролизует триглицериды в липопротеинах на две жирные кислоты и одну молекулу моноацилглицерина [Mead et al., 2002]. Ген *LPL* расположен в хромосоме 8p22, кодирует белок 448 аминокислот. Установлены высокая степень вариабельности последовательности гена *LPL*, неравновесие связей по сцеплению разных полиморфизмов гена *LPL* (*Ser447Ter* (*S447X*) и *HindIH*) [Humphries et al., 1998]. В различных популяциях исследуется связь полиморфизмов гена *LPL* с заболеваниями, связанными с дислипидемией. В том числе показано, что полиморфизм *Ser447(Ter)* гена *LPL*, вызванный трансверсией цитозина на гуанин (C1791G), влияет на захват клеточными рецепторами липопротеинов [Stocks et al., 1992]; генотип *rs238-GG-GC* значительно связан с повышением уровня триглицеридов по сравнению с генотипом *CC* [Emamian et al., 2015].

В данном исследовании изучали связь между полиморфизмами *LPL Ser447-Ter* и *FTO rs9939609* при ожирении в детской и подростковой популяции г. Ростова-на-Дону.

Материалы и методы

В исследовании «случай-контроль» изучена взаимосвязь полиморфизмов *rs9939609* гена *FTO* и *Ser447Ter* (*S447X*) гена *LPL* с ожирением у детей и

подростков, проживающих в г. Ростове-на-Дону. Обследование проводили в Медицинском центре «Наука» (г. Ростов-на-Дону, Россия); изучение генотипов осуществляли на кафедре генетики Южного федерального университета.

В соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этическими принципами научных медицинских исследований с участием человека» (с поправками 2000 г.), а также «Правилами клинической практики в Российской Федерации», все исследования проводились с информированного согласия опрошенных волонтеров (утверждено приказом Минздрава России от 19 июня 2003 г. № 266).

В обследовании приняли участие 520 детей и подростков обоего пола в возрасте от 3 до 18 лет. Основную группу составили 370 детей и подростков с ожирением, а контрольную – 150 детей и подростков без ожирения. Индекс массы тела (ИМТ) использовался в качестве основного критерия отбора добровольцев для исследования: дети и подростки с ИМТ > 30 составили группу с ожирением (основная группа), контрольную группу составили дети и подростки без ожирения (ИМТ < 20). Группы были сопоставимы по возрасту, полу и этнической принадлежности.

Молекулярно-генетические исследования проводили методом аллель-специфичной ПЦР. Для анализа использовали образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов периферической крови. Аллельные варианты гена *FTO* (*rs99305069*) и гена *LPL* (*Ser447Ter*) изучали с помощью набора реагентов SNP-Express (Литех, Россия). Анализ основан на реакциях амплификации с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Продукты амплификации разделяли горизонтальным электрофорезом в 3%-ном агарозном геле. Чистоту образцов ДНК проверяли на спектрофотометре NanoDrop 2000c (Termo Scientific, USA).

Для оценки ген-генных взаимоотношений использовали метод снижения размерности – MDR (Multifactor Dimensionality Reduction). Мультилокусные генотипы были объединены в группы высокого и низкого риска для сведения предикторов генотипа к одному измерению. После получения набора моделей для определения наилучшей общей из них использовали индексы сбалансированной точности тестирования (ТВА) и согласованности перекрестной валидации (СVC). Коррекцию на множественные сравнения проводили с использованием пермутационного теста. Статистически значимыми считали модели с уровнем значимости $p < 0.05$ [Hahn et al., 2003]. Оценку характера и силы межгенных взаимоотношений и их визуализацию проводили с помощью метода MDR.

Соответствие эмпирического распределения генотипов и аллельных вариантов/генотипов генов

LPL и *FTO* теоретически ожидаемому распределению при равновесии Харди-Вайнберга анализировали с использованием χ^2 теста. Была проведена коррекция для непрерывности и расчета соотношения шансов и 95% доверительного интервала (95% CI). Для определения риска ожирения, связанного с аллелями риска, проводили расчет связи между генотипом и аллелем ожирения с использованием отношения шансов (OR) и 95% доверительного интервала (CI), где непараметрические данные выражали с помощью компьютерной программы WinPeri версии 11.655 с использованием χ^2 теста и критерия Фишера. Значимые вариации частоты генотипов и аллелей рассчитывали с помощью метода Харди-Вайнберга.

Результаты исследования

Известно, что совместное присутствие нескольких аллельных вариантов генов, кодирующих функционально связанные белковые молекулы, может привести к формированию нового фенотипа вследствие незначительных, но взаимосвязанных изменений в функционировании генома и протеома. В ходе проведения анализа методом MDR выявлена модель межгенных взаимодействий, которая демонстрирует связь этих взаимоотношений полиморфизмов *rs9939609* гена *FTO* и *Ser447ter* гена *LPL* с развитием ожирения ($p = 0.0013$). Точность предсказания модели (ТВА) составила 57%, показатель согласованности модели (CVC) 10/10 (воспроизводимость 100%). При взаимодействии генов, входящих в данную модель, риск развития ожирения повышен (OR=1.903; 95% CI (1.282–2.825)).

При анализе взаимодействия полиморфных локусов гена *FTO* и гена *LPL*, ассоциированных с ожирением, установлены комбинации пяти сочетанных генотипов повышенного риска и двух - пониженного риска ожирения (рис. 1). У детей и подростков рисковыми являются сочетания генотипов *TT*, *AT* (*rs9939609*, *FTO*) и *CC*, *CG* (*Ser447Ter*, *LPL*), а также *AA* (*rs9939609*, *FTO*) и *GG* (*Ser447Ter*, *LPL*).

При анализе взаимодействия полиморфных ло-

кусов гена *FTO* и гена *LPL*, ассоциированных с ожирением, установлены комбинации пяти сочетанных генотипов повышенного риска и двух - пониженного риска ожирения (рис. 1). У детей и подростков рисковыми являются сочетания генотипов *TT*, *AT* (*rs9939609*, *FTO*) и *CC*, *CG* (*Ser447Ter*, *LPL*), а также *AA* (*rs9939609*, *FTO*) и *GG* (*Ser447Ter*, *LPL*).

На рисунке 2 представлен граф, иллюстрирующий характер и силу межгенных взаимоотношений полиморфных вариантов *Ser447Ter C>G* гена *LPL* и *re9939609 T>A* гена *FTO* у детей и подростков с ожирением. Интересно, что характер взаимодействия *FTO re9939609 T>A* и *LPL Ser447Ter C>G* - выраженный антагонистичный (цвет линии синий).

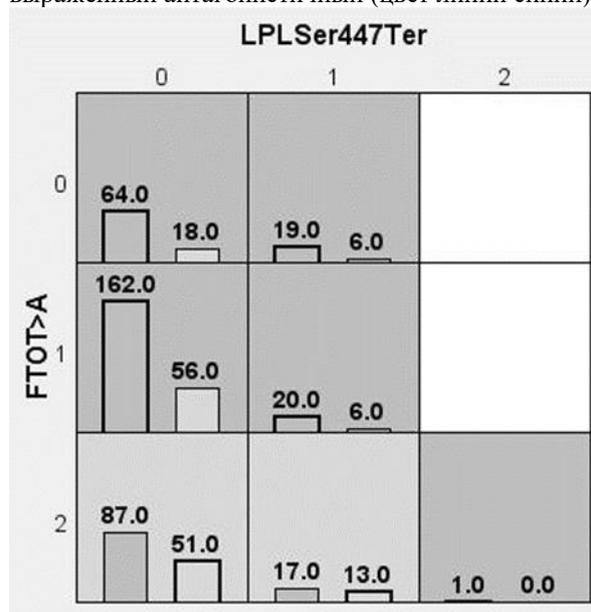


Рис. 1. Распределение частот двухлокусных генотипов генов *FTO re9939609 T>A* и *LPL Ser447Ter C>G* среди детей и подростков обеих групп с ожирением.

Темно-серые ячейки – генотипы повышенного риска, светло-серые – пониженного риска, белые – сочетание комбинаций генотипов отсутствуют, левые столбики в ячейках – число обследованных с ожирением, правые – число обследованных контрольной группы; 0 – гомозиготы по первому аллелю, 1 – гетерозиготы, 2 – гомозиготы по второму аллелю



Рис. 2. Граф межгенных взаимодействий *FTO re9939609 T>A* и *LPL Ser447Ter C>G* при развитии ожирения у детей и подростков.

Информационная ценность маркеров представлена на вершинах, а информационная ценность взаимодействия для пары локусов – на линии, где сила и направленность взаимодействия выражены в процентах энтропии

Далее проведен анализ распределения частот генотипов *LPL Ser447Ter* и *FTO rs9939609* у детей и подростков контрольной группы и страдающих

ожирением. Частота генотипа *TT* в группе с ожирением была выше (22.4%), чем в контрольной группе (17.3%). Тем не менее, значимая взаимо-

связь была установлена между полиморфизмом *rs9939609* гена *FTO* и выявленными группами риска ожирения ($\chi^2 = 9.965$, $P = 0.0079$).

При анализе распределения частоты генотипов полиморфного локуса *Ser447Ter* гена *LPL* показано, что генотип *CC* был у 313 детей и подростков с ожирением (84.6%), у 15.1% – генотип *CG*, у 0.3% – *GG* генотип. В контрольной группе частота встречаемости генотипа *CC* составила 83%, генотипа *CG* – 16.7%, генотип *GG* в этой группе не встречался. Связи полиморфного локуса *Ser447Ter* гена *LPL* с ожирением не было установлено ($\chi^2 = 0.586$; $p > 0.05$).

При анализе данных рецессивной модели «*AA vs AT + TT*» были получены результаты, согласно которым гипотеза рецессивности дикого аллеля подтверждается ($P = 0.002$; OR 0.53 95% CI (0.36–0.79)). Интересно, что 28.4% детей и подростков с ожирением и 42.7% обследованных контрольной группы были с генотипом *AA*. Наибольший процент детей и подростков с ожирением имели генотип *AT*, генотип *TT* был примерно одинаково представлен в группе с ожирением и среди детей и подростков контрольной группы (18% и 17.3%, соответственно) (табл. 1).

Таблица 1

Распределение частот полиморфизмов *Ser447Ter* гена *LPL* и *rs9939609* гена *FTO* в рамках доминантной и рецессивной моделей

Генотипы	n = 370(%)	n = 150(%)	χ^2	<i>p</i>	ОШ (95% ДИ)
<i>FTO TT</i>	83 (22.4)	26 (17.3)	9.965	0.0079	
<i>AT</i>	182 (49.2)	60 (40)			
<i>AA</i>	105 (28.4)	64 (42.7)			
<i>*AA + AT vs TT</i>	287 (77.6)	124 (82.7)	1.675	0.234	0.73 (0.45 – 1.18)
	83 (22.4)	26 (17.3)			
<i>**AA vs AT + TT</i>	105 (28.4)	64 (42.7)	9.933	0.002	0.53 (0.36 – 0.79)
	265 (71.6)	86 (57.3)			
<i>LPL Ser447Ter CC</i>	313 (84.6)	125 (83.3)	0.586	0.779	
<i>CG</i>	56 (15.1)	25 (16.7)			
<i>GG</i>	1 (0.3)	0 (0)			
<i>*GG + CG vs CC</i>	57 (15.4)	25 (16.7)	0.128	0.791	0.91 (0.55 – 1.52)
	313 (84.6)	125 (83.3)			
<i>**GG vs CG + CC</i>	1 (0.3)	0 (0)	0.406	1.000	1.22 (0.05 – 29.89)
	369 (99.7)	150 (100)			

χ^2 – Хи-квадрат Пирсона, ОШ – отношение шансов, 95%-ный доверительный интервал – ДИ, *доминантная модель, **рецессивная модель.

При сопоставлении результатов сопряженности между полиморфными участками гена *LPL* и наличием ожирения выявлен лишь один случай с мутантным генотипом *GG* в группе с ожирением. Гетерозиготный генотип был представлен как в группе с ожирением (15.1%), так и в контрольной группе (16.7%). Частота встречаемости полиморфизма *Ser447Ter* гена *LPL* в этих группах статистически не различалась, поэтому данный полиморфный локус без межгенных взаимодействий с другими генетическими предикторами ожирения в данной популяции детей и подростков не ассоциирован с ожирением.

Для выявления соответствия распределению Харди-Вайнберга было проанализировано частотное распределение генотипов гена *FTO*. При расчете относительного риска ожирения по отношению шансов (OR) истинный генетический эффект не соответствовал распределению Харди-Вайнберга, поэтому является неэффективным для исследуемых групп. Частота генотипа *AA* была достоверно повышена в контрольной группе относи-

тельно группы с ожирением ($\chi^2 = 9.933$, $P = 0.002$). При этом частота генотипов *TT* ($P = 0.23$; OR 1.38 95% CI (0.85–2.24)) и *AT* ($P = 0.06$; OR 1.45 95% CI (0.99–2.13)) достоверно не отличалась у детей и подростков с ожирением и не страдающих ожирением обследованных добровольцев (табл. 2).

При исследовании гена *LPL Ser447Ter*, показано, что распределение генотипов в исследуемом локусе соответствует равновесию Харди-Вайнберга в обеих группах (с ожирением и в контрольной группе) (табл. 2). Частоты генотипов *CC* ($p = 0.79$; OR 1.10 95% CI (0.66–1.83)) и *CG* ($p = 0.69$; OR 0.89 95% CI (0.53–1.49)) достоверно не различались в обеих группах.

Согласно анализа распределения частот аллелей гена *FTO* в контрольной группе частота встречаемости аллеля *T* составила 37.3%, аллеля *A* – 62.7%, тогда как в группе с ожирением распределение частот этих аллелей не столь сильно различалось: частота их встречаемости составила, соответственно, 47 и 53%. В результате разница между контрольной группой и группами детей и подрост-

ков с ожирением по показателю распределения данных частот была достоверной ($p = 0.005$).

Таблица 2

Анализ распределения частот генотипов *LPL* (*Ser447Ter*) и *FTO* (*rs9939609*) у обследованных детей и подростков

Генотипы	Группа с ожирением	Контрольная группа	χ^2	ОШ (95% ДИ)	p
<i>rs9939609</i>					
<i>TT</i>	83	26	1.675	1.38 (0.85 – 2.24)	0.234
<i>AT</i>	182	60	3.622	1.45 (0.99 – 2.13)	0.065
<i>AA</i>	105	64	9.933	0.53 (0.36 – 0.79)	0.002
Total	370	150			
<i>P-HWE</i>	0.806	0.075			
<i>Ser447Ter</i>					
<i>CC</i>	313	125	0.128	1.10 (0.66 – 1.83)	0.791
<i>CG</i>	56	25	0.190	0.89 (0.53 – 1.49)	0.689
<i>GG</i>	1	0	0.557	1.68 (0.07 – 40.99)	1.000
Total	370	150			
<i>P-HWE</i>	0.359	0.265			

χ^2 - Хи-квадрат Пирсона, ОШ - отношение шансов, 95%-ный доверительный интервал - ДИ, p - уровень значимости, *P-HWE* - вероятность равновесия Харди-Вайнберга.

При сравнении распределения аллелей гена *LPL* установлено, что в обеих группах частота аллеля *C* была выше 90%, а частота аллеля *G* в группе с ожирением составила 7.8%, в контрольной

группе – 8.3%. При этом достоверных различий распределения аллелей гена *LPL* в этих группах не установлено ($p = 0.80$) (табл. 3).

Таблица 3

Распределение частот аллелей полиморфизмов генов *LPL* (*Ser 447Ter*) и *FTO* (*rs9939609*) у обследованных детей и подростков

Частота аллелей	Группа с ожирением	Контрольная группа	χ^2	p	ОШ (95% ДИ)	
	$n = 740$ %	$n = 300$ %				
<i>FTO/T</i>	348 (47.0)	112 (37.3)	8.132	0.005	1.49	1.13 – 1.96
<i>FTO/A</i>	392 (53.0)	188 (62.7)			0.67	0.51 – 0.88
<i>LPL/C</i>	682 (92.2)	275 (91.7)	0.071	0.801	1.07	0.66 – 1.74
<i>LPL/G</i>	58 (7.8)	25 (8.3)			0.94	0.57 – 1.53

χ^2 - Хи-квадрат Пирсона, ОШ - отношение шансов, 95%-ный доверительный интервал - ДИ, p - уровень значимости.

Обсуждение результатов

Детское ожирение остается одной из наиболее важных проблем в области здравоохранения, поскольку имеет как краткосрочные, так и долгосрочные последствия [Di Cesare et al., 2019]. У детей с ожирением повышен риск развития эмоциональных и поведенческих расстройств, а также ряда соматических заболеваний [Friedemann et al., 2012; Brady, 2017; Quek et al., 2017]. В долгосрочной перспективе ожирение у детей повышает риск развития кардиометаболических нарушений у взрослых [Park et al., 2012]. Это актуализирует важность определения причин детского ожирения и его профилактики. Развитие персонализированной геномики позволит идентифицировать генетические факторы риска заболеваний, в частности, ожирения. Детский фенотип ожирения более удо-

бен для анализа, поскольку меньше связан с образом жизни и больше с полиморфизмом генов по сравнению со взрослыми [Li et al., 2020], что доказывают и результаты исследования, согласно которым индекс массы тела у детей более тесно коррелирует с материнским, чем отцовским ИМТ, и что значения ИМТ генетически детерминированы на 40–90% ИМТ [Fawcett, Barroso, 2010].

Данное исследование представляет собой первое сообщение о частоте полиморфизмов *Ser447Ter* гена липопротеинлипазы и *rs9939609* гена *FTO* при ожирении в детской и подростковой популяции г. Ростова-на-Дону. Ген *FTO* является генетическим фактором риска ожирения, особенно полиморфизм первого интрона данного гена (*rs9939609*). Для анализа также был выбран полиморфизм *Ser447Ter* гена липопротеинлипазы, поскольку предполагают, что при ожирении растет активность *LPL* в жировой ткани [Ketn et al., 1990].

В проведенном исследовании с использованием метода снижения размерности MDR была выявлена модель межгенных взаимодействий полиморфизмов *rs9939609* гена *FTO* и *Ser447ter* гена *LPL* с развитием ожирения. В результате определены сочетания генотипов повышенного и пониженного риска ожирения в детской и подростковой популяции г. Ростова-на-Дону. Установлен антагонистичный характер взаимоотношений полиморфных вариантов *Ser447Ter C>G* гена *LPL* и *re9939609 T>A* гена *FTO* у детей и подростков с ожирением. Этот факт может свидетельствовать о том, что полиморфизм *LPL* и *re9939609 T>A* при взаимодействии с геном *FTO* (*re9939609*) снижает атерогенное действие мутантного гена *FTO*. Это подтверждают данные литературы, согласно которым данный вариант гена *LPL* определяет синтез укороченной липопротеиназы, тем самым повышая сродство липопротеинов к рецепторам клетки и снижая уровень проатерогенных факторов [Wang et al., 2011].

В проведенном исследовании также было установлено, что распределение аллеля *A* гена *FTO* в обеих группах соответствовало данным о его встречаемости в разных популяциях [Luczynski et al., 2012; Moleret et al., 2012]. В литературе сообщается о том, что носительство генотипов *TA* и *AA* гена *FTO* и, соответственно, аллеля *A* определяет риск ожирения, в том числе, в детской популяции [Liu et al., 2017; Wang et al., 2020; Abd Ali et al., 2020]. Однако большинство работ в рамках проблемы ассоциации полиморфизмов генов с ожирением в настоящее время выполнено на взрослой популяции [Prakash et al., 2016; Lubis et al., 2017 и др.]. В данном исследовании не обнаружили преобладания носителей полиморфизма *rs9939609* гена *FTO* среди детей и подростков с ожирением относительно контрольной группы: при расчете относительного риска ожирения по отношению шансов (OR) эффект аллеля *A* не соответствовал ожиданию. Предположительно это связано с гендерными различиями ассоциации полиморфизма *rs9939609* гена *FTO* с признаками ожирения: чувствительностью к инсулину и уровнем глюкозы в плазме крови [Jacobsson et al., 2008], а также с различием физической активности и потребления пищи у носителей полиморфизма *rs9939609* как в контрольной, так и основной группах [Wiemerslage et al., 2016]. Гендерные и поведенческие факторы в данном исследовании не учитывали.

Таким образом, поскольку основное количество исследований по проблеме ассоциации полиморфизмов генов, связанных с ожирением, в частности, полиморфизма *rs9939609* гена *FTO*, было проведено на взрослой популяции, можно предположить, что существуют возрастные различия в значимости полиморфизмов генов, связанных с ожирением, на риск ожирения. Это определяет

важность поиска новых генетических факторов риска ожирения в детской и подростковой популяции, которые в долгосрочной перспективе могут определить развитие ожирения и связанных с ним заболеваний во взрослом возрасте.

Заключение

В данном исследовании изучена связь полиморфизмов *rs9939609* гена *FTO* и *Ser447Ter* гена *LPL* в детской и подростковой популяции г. Ростова-на-Дону (Россия). Выявлены генотипы повышенного и сниженного риска ожирения. Показана значительная связь между возникновением ожирения в с полиморфизмом *rs9939609* гена *FTO*, а также отсутствие ассоциации локуса *Ser447Ter* гена *LPL* с ожирением: данный полиморфизм находится в антогонистических отношениях с полиморфизмом *rs9939609* гена *FTO*. Также обнаружено значительное снижение этого показателя в контрольной группе.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0028.

Список литературы

- Abd Ali A.H. et al. Association analysis of FTO gene polymorphisms rs9939609 and obesity risk among the adults: A systematic review and meta-analysis // *Meta Gene*. 2020.100832.
- Al-Serri A. et al. Association of FTO rs9939609 with Obesity in the Kuwaiti Population: A Public Health Concern? // *Med. Princ. Pract.* 2018. Vol. 27, Iss. 2. P. 145–51.
- Baturin A.K. et al. The investigation the combined effect of SNP rs9939609 (gene FTO) and rs4994 (gene ADRB3) polymorphisms on risk of obesity // *Vopr. Pitan.* 2016. Vol. 85, Iss. 4. P. 29–34.
- Brady T.M. Obesity-related hypertension in children // *Front. Pediatr.* 2017. Vol. 5. P. 197.
- Di Cesare M. et al. The epidemiological burden of obesity in childhood: a worldwide epidemic requiring urgent action // *BMC Med.* 2019. Vol. 17, Iss. 1. P. 1–20.
- Ehrlich A.C. Friedenberg F.K. Genetic associations of obesity: The fat-mass and obesity-associated (FTO) gene // *Clin. Transl. Gastroenterol.* 2016. Vol. 7, Iss. 1. P. e140.
- Ematian M. et al. The lipoprotein lipase S447X and cholesteryl ester transfer protein rs5882 polymorphisms and their relationship with lipid profile in human serum of obese individuals // *Gene*. 2015. Vol. 558, Iss. 2. P. 195–199.
- Eshghinia S. et al. Association between lipoprotein lipase gene PvuII polymorphism and lipid profile

- and body mass index in the Turkmen population of Golestan province // *Iran J. Nutr. Sci. Food Technol.* 2014. Vol. 8, Iss. 4. P. 21–29.
- Fawcett K.A. Barroso I. The genetics of obesity: FTO leads the way // *Trends Genet.* 2010. Vol. 26, Iss. 6. P. 266–274.
- Friedemann C. et al. Cardiovascular disease risk in healthy children and its association with body mass index: systematic review and meta-analysis // *Bmj.* 2012. Vol. 345.
- Goodarzi M.O. Genetics of obesity: what genetic association studies have taught us about the biology of obesity and its complications // *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2018. Vol. 6, Iss. 3. P. 223–236.
- Hahn L.W. et al. Multifactor dimensionality reduction software for detecting gene–gene and gene–environment interactions // *Bioinformatics.* 2003. Vol. 19, Iss. 3. P. 376–382.
- Humphries S.E. et al. Lipoprotein lipase gene variation is associated with a paternal history of premature coronary artery disease and fasting and postprandial plasma triglycerides: the European Atherosclerosis Research Study (EARS) // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998. Vol. 18, Iss. 4. P. 526–534.
- Jacobsson J.A. et al. Major gender difference in association of FTO gene variant among severely obese children with obesity and obesity related phenotypes // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008. Vol. 368, Iss. 3. P. 476–482.
- Kern P.A. et al. The effects of weight loss on the activity and expression of adipose-tissue lipoprotein lipase in very obese humans // *N. Engl. J. Med.* 1990. Vol. 322, Iss. 15. P. 1053–1059.
- Li G. et al. Interaction between early environment and genetic predisposition instigates the metabolically obese, normal weight phenotype in children: findings from the BCAMS study // *Eur. J. Endocrinol.* 2020. Vol. 182, Iss. 4. P. 393–403.
- Lin H. et al. The prevalence, metabolic risk and effects of lifestyle intervention for metabolically healthy obesity: a systematic review and meta-analysis: a PRISMA-compliant article // *Medicine (Baltimore).* 2017. Vol. 96, Iss. 47.
- Liu A.L. et al. Association between fat mass and obesity associated (FTO) gene rs9939609 A/T polymorphism and polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis // *BMC Med. Genet.* 2017. Vol. 18, Iss. 1. P. 1–7.
- Lubis S.M. et al. Association of fat mass and obesity-associated gene (FTO) rs9939609 variant with early onset obesity among Batakese and Chinese children in Indonesia: a case-control study // *Indones. Biomed. J.* 2017. Vol. 9, Iss. 3. P. 147–152.
- Luczynski W. et al. The association of the FTO rs9939609 polymorphism with obesity and metabolic risk factors for cardiovascular diseases in Polish children // *J. Physiol. Pharmacol.* 2012. Vol. 63, Iss. 3. P. 241.
- Mead J.R. et al. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease // *J. Mol. Med.* 2002. Vol. 80, Iss. 12. P. 753–769.
- Moleres A. et al. Dietary fatty acid distribution modifies obesity risk linked to the rs9939609 polymorphism of the fat mass and obesity-associated gene in a Spanish case–control study of children // *Br. J. Nutr.* 2012. Vol. 107, Iss. 4. P. 533–538.
- Mozafarizadeh M. et al. Evaluation of FTO rs9939609 and MC4R rs17782313 polymorphisms as prognostic biomarkers of obesity: A population-based cross-sectional study // *Oman Med. J.* 2019. Vol. 34, Iss. 1. P. 56.
- Organization W.H. The double burden of malnutrition: policy brief // *World Health Organization.* 2016.
- Park M.H. et al. The impact of childhood obesity on morbidity and mortality in adulthood: a systematic review // *Obes. Rev.* 2012. Vol. 13, Iss. 11. P. 985–1000.
- Prakash J. et al. Association of FTO rs9939609 SNP with obesity and obesity-associated phenotypes in a North Indian population // *Oman Med. J.* 2016. Vol. 31, Iss. 2. P. 99.
- Priliani L. et al. Obesity in the Balinese is associated with FTO rs9939609 and rs1421085 single nucleotide polymorphisms // *Peer. J.* 2020. Vol. 8. P. e8327.
- Quek Y. et al. Exploring the association between childhood and adolescent obesity and depression: a meta-analysis // *Obes. Rev.* 2017. Vol. 18, Iss. 7. P. 742–754.
- Stocks J. et al. Lipoprotein lipase genotypes for a common premature termination codon mutation detected by PCR-mediated site-directed mutagenesis and restriction digestion // *J. Lipid. Res.* 1992. Vol. 33, Iss. 6. P. 853–857.
- Velazquez A., Apovian C.M. Updates on obesity pharmacotherapy // *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2018. Vol. 1411, Iss. 1. P. 106–119.
- Wang C. et al. Lipoprotein lipase Ser447Ter polymorphism associated with the risk of ischemic stroke: a meta-analysis // *Thromb. Res.* 2011. Vol. 128, Iss. 5. P. e107–e112.
- Wang D. et al. Rs9939609 polymorphism of the fat mass and obesity-associated (FTO) gene and metabolic syndrome susceptibility in the Chinese population: a meta-analysis // *Endocrine. Springer,* 2020. P. 1–8.
- Wiemerslage L. et al. An obesity-associated risk allele within the FTO gene affects human brain activity for areas important for emotion, impulse control and reward in response to food images // *Eur. J*

Neurosci. 2016. Vol. 43, Iss. 9. P. 1173–1180.

References

- Abd Ali A.H. et al. Association analysis of FTO gene polymorphisms rs9939609 and obesity risk among the adults: A systematic review and meta-analysis. *Meta Gene* (2020): p. 100832.
- Al-Serri A. et al. Association of FTO rs9939609 with Obesity in the Kuwaiti Population: A Public Health Concern? *Med Princ Pract.* V. 27, Iss. 2 (2018): pp. 145-51.
- Baturin A.K. et al. The investigation the combined effect of SNP rs9939609 (gene FTO) and rs4994 (gene ADRB3) polymorphisms on risk of obesity. *Vopr Pitan.* V. 85, Iss. 4 (2016): pp. 29-34.
- Brady T.M. Obesity-related hypertension in children. *Front Pediatr.* V. 5 (2017): p. 197.
- Di Cesare M. et al. The epidemiological burden of obesity in childhood: a worldwide epidemic requiring urgent action. *BMC Med.* V. 17, Iss. 1 (2019): pp. 1-20.
- Ehrlich A.C., Friedenberg F.K. Genetic associations of obesity: The fat-mass and obesity-associated (FTO) gene. *Clin. Transl. Gastroenterol.* V. 7, Iss. 1 (2016): p. e140.
- Emamian M. et al. The lipoprotein lipase S447X and cholesteryl ester transfer protein rs5882 polymorphisms and their relationship with lipid profile in human serum of obese individuals. *Gene.* V. 558, Iss. 1 (2015): pp. 195-199.
- Eshghinia S. et al. Association between lipoprotein lipase gene PvuII polymorphism and lipid profile and body mass index in the Turkmen population of Golestan province. *Iran J. Nutr. Sci. Food Technol.* V. 8, Iss. 4 (2014): pp. 21-29.
- Fawcett K.A., Barroso I. The genetics of obesity: FTO leads the way. *Trends Gene.* V. 26, Iss. 6 (2010): pp. 266-274.
- Friedemann C. et al. Cardiovascular disease risk in healthy children and its association with body mass index: systematic review and meta-analysis. *Bmj.* V. 345 (2012).
- Goodarzi M.O. Genetics of obesity: what genetic association studies have taught us about the biology of obesity and its complications. *Lancet Diabetes Endocrinol.* V. 6, Iss. 3 (2018): pp. 223-236.
- Hahn L.W. et al. Multifactor dimensionality reduction software for detecting gene–gene and gene–environment interactions. *Bioinformatics.* V. 19, Iss. 3 (2003): pp. 376-382.
- Humphries S.E. et al. Lipoprotein lipase gene variation is associated with a paternal history of premature coronary artery disease and fasting and postprandial plasma triglycerides: the European Atherosclerosis Research Study (EARS). *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* V. 18, Iss. 4 (1998): pp. 526-534.
- Jacobsson J.A. et al. Major gender difference in association of FTO gene variant among severely obese children with obesity and obesity related phenotypes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* V. 368, Iss. 3 (2008): pp. 476-482.
- Kern P.A. et al. The effects of weight loss on the activity and expression of adipose-tissue lipoprotein lipase in very obese humans. *N. Engl. J. Med.* V. 322, Iss. 15 (1990): pp. 1053-1059.
- Li G. et al. Interaction between early environment and genetic predisposition instigates the metabolically obese, normal weight phenotype in children: findings from the BCAMS study. *Eur. J. Endocrinol.* V. 182 (2020): pp. 393-403.
- Lin H. et al. The prevalence, metabolic risk and effects of lifestyle intervention for metabolically healthy obesity: a systematic review and meta-analysis: a PRISMA-compliant article. *Medicine (Baltimore).* V. 96, Iss. 47 (2017).
- Liu A.L. et al. Association between fat mass and obesity associated (FTO) gene rs9939609 A/T polymorphism and polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med. Genet.* V. 18, Iss. 1 (2017): pp. 1-7.
- Lubis S.M. et al. Association of fat mass and obesity-associated gene (FTO) rs9939609 variant with early onset obesity among Batakese and Chinese children in Indonesia: a case-control study. *Indones. Biomed. J. V.* 9, Iss. 3 (2017): pp. 147-152.
- Luczynski W. et al. The association of the FTO rs9939609 polymorphism with obesity and metabolic risk factors for cardiovascular diseases in Polish children. *J. Physiol. Pharmacol.* V. 63, Iss. 3 (2012): p. 241.
- Mead J.R. et al. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *J. Mol. Med.* V. 80, Iss. 12 (2002): pp. 753-769.
- Moleres A. et al. Dietary fatty acid distribution modifies obesity risk linked to the rs9939609 polymorphism of the fat mass and obesity-associated gene in a Spanish case–control study of children. *Br. J. Nutr.* V. 107, Iss. 4 (2012): pp. 533-538.
- Mozafarizadeh M. et al. Evaluation of FTO rs9939609 and MC4R rs17782313 polymorphisms as prognostic biomarkers of obesity: A population-based cross-sectional study. *Oman Med. J.* V. 34, Iss. 1 (2019): p. 56.
- Organization W.H. The double burden of malnutrition: policy brief. *World Health Organization.* 2016.
- Park M.H. et al. The impact of childhood obesity on morbidity and mortality in adulthood: a systematic review. *Obes. Rev.* V. 13, Iss. 11 (2012): pp. 985-1000.
- Prakash J. et al. Association of FTO rs9939609 SNP with obesity and obesity-associated phenotypes in a North Indian population. *Oman Med. J.* V. 31, Iss. 2 (2016): p. 99.

- Priyani L. et al. Obesity in the Balinese is associated with *FTO* *rs9939609* and *rs1421085* single nucleotide polymorphisms. *PeerJ*. V. 8 (2020): p. e8327.
- Quek Y. et al. Exploring the association between childhood and adolescent obesity and depression: a meta-analysis. *Obes. Rev.* V. 18, Iss. 7 (2017): pp. 742-754.
- Stocks J. et al. Lipoprotein lipase genotypes for a common premature termination codon mutation detected by PCR-mediated site-directed mutagenesis and restriction digestion. *J. Lipid. Res.* V. 33, Iss. 6 (1992): pp. 853-857.
- Velazquez A., Apovian C.M. Updates on obesity pharmacotherapy. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* V. 1411, Iss. 1 (2018): pp. 106-119.
- Wang C. et al. Lipoprotein lipase *Ser447Ter* polymorphism associated with the risk of ischemic stroke: a meta-analysis. *Thromb. Res.* V. 128, Iss. 5 (2011): pp. e107-e112.
- Wang D. et al. *Rs9939609* polymorphism of the fat mass and obesity-associated (*FTO*) gene and metabolic syndrome susceptibility in the Chinese population: a meta-analysis. *Endocrine.* (2020): pp. 1-8.
- Wiemerslage L. et al. An obesity-associated risk allele within the *FTO* gene affects human brain activity for areas important for emotion, impulse control and reward in response to food images. *Eur. J. Neurosci.* V. 43, Iss. 9 (2016): pp. 1173-1180.

Поступила в редакцию 11.05.2021

Об авторах

Абд Али Алаа Хашим, аспирант
ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9664-7751>
344006, Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая, 105/42;
alaahashim960@gmail.com

Бочарова Ольга Владимировна, соискатель
Ростовский государственный медицинский университет
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5056-1506>
344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский,
29; sharmia@yandex.ru

Шкурят Татьяна Павловна, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой генетики
ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6197-7374>
344006 Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая, 105/42;
tshkurat@yandex.ru; (863)219-87-94

Шкурят Михаил Алексеевич, старший научный сотрудник
ООО «Наука»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9383-4607>
344034, Ростов-на-Дону, ул. Загорская, 23а;
mashkurat34@mail.ru

Амелина Мария Александровна, старший научный сотрудник
ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7459-2796>
344006 Ростов-на-Дону, ул. Б. Садовая, 105/42;
maamelina47@mail.ru

About the authors

Abd Ali Alaa Hashim, PhD student
Southern Federal University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9664-7751>
344006, Russia, Rostov-on-Don, str. B. Sadovaya,
105/42; alaahashim960@gmail.com

Bocharova Olga Vladimirovna, PhD student
Rostov State Medical University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5056-1506>
344022, Russia, Rostov-on-Don, Nakhichevan
lane, 29; sharmia@yandex.ru

Shkurat Tatyana Pavlovna, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Genetics
Southern Federal University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6197-7374>
344006, Russia, Rostov-on-Don, str. B. Sadovaya,
105/42; tshkurat@yandex.ru; (863)219-87-94

Shkurat Mikhail Alekseevich, Senior Researcher
Limited liability company «Science».
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9383-4607>
344034, Russia, Rostov-on-Don, str. Zagorskaya
23a; mashkurat34@mail.ru

Amelina Maria Aleksandrovna, Senior Researcher
Southern Federal University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7459-2796>
344006, Russia, Rostov-on-Don, str. B. Sadovaya,
105/42; maamelina47@mail.ru

Информация для цитирования:

Взаимосвязь липопротеинлипазы *Ser447Ter* и полиморфизма *rs9939609* гена *FTO* с ожирением у детей и подростков в популяции Ростова-на-Дону / А.Х. Абд Али, О.В. Бочарова, Т.П. Шкурят, М.А. Шкурят, М.А. Амелина // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2021. Вып. 2. С. 119–127. DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-119-127.

Abd Ali A.H., Bocharova O.V., Shkurat T.P., Shkurat M.A., Amelina M.A. [Association of *Ser447Ter* polymorphisms of the *LPL* gene and *rs9939609* of the *FTO* gene with obesity in children and adolescents in the Rostov-on-Don population]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 2 (2021): pp. 119-127. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-119-127.

ЭКОЛОГИЯ

УДК 619:616.99:599.742

DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-128-133.

Т. Н. Сивкова^{a,b}, Н. А. Четанов^{b,c}

^a Пермский государственный аграрно-технологический университет им. акад. Д.Н. Прянишникова, Пермь, Россия

^b Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^c Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет, Пермь, Россия

ДИНАМИКА ЗАРАЖЕННОСТИ ДОМАШНИХ КОШЕК В Г. ПЕРМИ

Сравнительный анализ 15-летней динамики зараженности домашних кошек на территории г. Перми кишечными гельминтами и простейшими, позволил определить экстенсивность инвазии (ЭИ) животных кишечными паразитами на уровне 17.97%. Четкое доминирование установлено для *Toxocara cati* Schrank, 1788 (7.42%), *Hydatigera taeniaeformis* Batsch, 1786 (1.38%), *Isoospora felis* Last M.J., Powell E.C., 1978 (3.85%) и *Isoospora rivolta* Grassi, 1879 (1.10%). Выявлены потенциально опасные для человека паразиты: *Lambliа spp.* (син. *Giardia*) Künstler, 1882, *Cryptosporidium spp.* Tyzzer, 1907, *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1908, *Spirometra erinacei-europaei* Rudolphi, 1819, *Dipylidium caninum* Linnaeus, 1758; Railliet, 1892, *Dibothriocephalus latus* (*Diphyllobothrium latum*) Linnaeus, 1758, *Opisthorchis felineus* (Rivolta, 1884) Blanchard, 1895. Годовая динамика доминирующих инвазий выражена нечетко, тогда как корреляция сезонных уровней инвазированности как гельминтами, так и простейшими, между ними четко положительна ($p < 0.05$), что подтверждает наличие сложившихся природных очагов указанных паразитозов и преимущественную роль грызунов в заражении домашних кошек.

Ключевые слова: домашние кошки; гельминты; простейшие; зараженность.

Т. N. Sivkova^{a,b}, N. A. Chetanov^{b,c}

^a Perm State Agrarian-Technical University, Perm, Russian Federation

^b Perm State University, Perm, Russian Federation

^c Perm State Humanitarian Pedagogical University, Perm, Russian Federation

Dynamics of parasitic infection in domestic cats in Perm city

A comparative analysis of the long-term dynamics of domestic cats' infestation on the territory of Perm with intestinal helminths and protozoa, as well as establishing the relationship between the extent of prevalence of individual pathogens were performed. The prevalence of intestinal parasites is 17.97%. The significant dominant species are *Toxocara cati* Schrank, 1788 (7.42%), *Hydatigera taeniaeformis* Batsch, 1786 (1.38%), *Isoospora felis* Last M.J., Powell E.C., 1978 (3.85%) и *Isoospora rivolta* Grassi, 1879 (1.10%). Also potentially dangerous parasites for humans were found: *Lambliа spp.* (syn. *Giardia*) Künstler, 1882, *Cryptosporidium spp.* Tyzzer, 1907, *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1908, *Spirometra erinacei-europaei* Rudolphi, 1819, *Dipylidium caninum* Linnaeus, 1758; Railliet, 1892, *Dibothriocephalus latus* (syn. *Diphyllobothrium latum*) Linnaeus, 1758, *Opisthorchis felineus* (Rivolta, 1884) Blanchard, 1895. The year's dynamics of dominant infections are not clearly expressed, however, the correlation between the most common helminths and protozoa is really positive ($p < 0.05$), that confirms a presence of natural sites of specified parasites and a primary role of rodents in domestic cats infestation.

Key words: domestic cats; helminths; protozoa; infestation.

Введение

Изучение паразитофауны мелких домашних животных всегда привлекало пристальное внимание ветеринарных и медицинских специалистов как в связи с широким распространением инвазионных заболеваний и их способностью вызывать

тяжелые патологии у плотоядных, так и опасностью передачи инвазии человеку [Борцова, 2007; Сергиев и др., 2007; Москвина, Железнова, 2017; Kurnosova, Arisov, Odoyevskaya, 2019]. В г. Перми целенаправленные паразитологические исследования материала как домашних, так и диких животных проводятся с 2005 г. и до настоящего времени.

За указанный период накоплен значительный объем информации, изучение и обработка которого имеет определенный научный и практический интерес, так как позволяет, во-первых, выявить закономерности распространения паразитарных заболеваний домашних плотоядных в городской среде, и во-вторых, прогнозировать дальнейшее развитие ситуации на территории города, что необходимо для организации эффективной борьбы с выявленными патогенами.

Цель настоящей работы – проведение сравнительного анализа многолетней динамики уровня зараженности домашних кошек на территории г. Перми кишечными гельминтами и простейшими, а также установление взаимосвязи экстенсивности инвазии отдельными патогенами с помощью статистического анализа.

Материал и методы исследования

В качестве материала для паразитологических исследований служили образцы фекального материала от принадлежащих частным лицам кошек, поступавших в несколько ветеринарных клиник г. Перми как для проведения плановых профилактических обследований, так и для лабораторной диагностики острых и хронических патологий. При этом во время проведения анализов пол, породу и возраст животных в сопроводительных документах указывали не всегда, поэтому при статистической обработке данную информацию не учитывали.

Фекалии собирали трехкратно, с интервалом 3–4 дня, в пластиковые контейнеры с консервантом Турдыева, хранили в темноте при комнатной температуре. Паразитологические исследования выполняли на кафедре инфекционных болезней ФГБОУ ВО Пермский государственный аграрно-технологический университет им. акад. Д.Н. Прянишникова (ПГАТУ) с применением комбинированного метода Г.А. Котельникова – В.М. Хренова с раствором нитрата аммония плотностью 1.3 г/мл, а также седиментационным методом последовательных промываний.

Для просмотра препаратов использовали микроскоп фирмы Meiji (Japan) на малом ($\times 10$) и среднем ($\times 40$) увеличении объектива с выведением изображения на монитор персонального компьютера при помощи камеры Vision (Canada).

Определение выявленных паразитов проводили по морфологическим признакам и описаниям, приведенным в отечественной и зарубежной литературе.

Регистрацию результатов паразитологических исследований заносили в лабораторный журнал. Впоследствии полученную информацию подвергли статистической обработке с применением программы Статистика 10. Характеристику выборок выполняли с применением стандартных процедур

описательной статистики. Для оценки взаимосвязи переменных использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и их обсуждение

За пятнадцатилетний период в паразитологической лаборатории ПГАТУ было исследовано 6 010 проб фекального материала от домашних кошек, в среднем – по 389.47 в год, однако, в различные годы количество проб значительно отличалось от минимального – 42 в 2005 г. до максимального – 681 – в 2013 г. (рис. 1). Увеличение количества анализов более чем в 16 раз было связано с ростом популярности данного способа диагностики, тогда как последующий плавный спад – с успешной подготовкой кадров ветеринарных врачей, осуществляемой на факультете ветеринарной медицины и зоотехнии Пермского ГАТУ, и их последующим трудоустройством в ветеринарные клиники г. Перми, в части из которых начали функционировать собственные лаборатории. Также в последние годы сформировалась тенденция к использованию для постановки диагноза методов полимеразной цепной реакции, выполняемых в крупных лабораториях г. Москвы. На фоне изменения количества проведенных анализов экстенсивность инвазии кошек по результатам исследований варьировала от 43% в 2008 г. до 12% – в 2018 г. В целом уровень ЭИ инвазии кошек после 2010 г. сохраняется примерно на одном уровне.

Изучение ЭИ отдельными паразитами показало, что доминирующими видами являются *Toxocara cati* Schrank, 1788 (син. *Toxocara mystax* Zeder, 1800) (7.42%), *Isospora felis* Last M.J., Powell E.C., 1978 (3.85%), *Hydatigera taeniaeformis* Batsch, 1786 (1.38%), а также *Isospora rivolta* Grassi, 1879 (1.10%) (рис. 2). Доля инвазии остальными возбудителями не превышала за все годы 1%, однако среди них выявлены потенциально опасные для человека: *Lambliа spp.* (син. *Giardia*) [Künstler](#), 1882, *Cryptosporidium spp.* [Tyzzer](#), 1907, *Toxoplasma gondii* [Nicolle & Manceaux](#), 1908, *Spirometra erinacei-europaei* [Rudolphi](#), 1819, *Dibothriocephalus latus* (*Diphyllobothrium latum*) [Linnaeus](#), 1758, *Dipylidium caninum* [Linnaeus](#), 1758; [Railliet](#), 1892, *Opisthorchis felineus* ([Rivolta](#), 1884) [Blanchard](#), 1895. Несмотря на то, что большинством указанных паразитов человек непосредственно от кошек не заражается [[Fuentes, Galan-Puchades, Malone](#), 2003; [Шималов](#), 2009; [Hussam S. Al-Aredhi](#), 2015; [Peng Jiang et al.](#), 2017], данную информацию необходимо учитывать как ветеринарным, так и медицинским службам при организации борьбы с антропоозоозами.

Анализ динамики ЭИ доминирующими паразитами показал пик инвазии токсокарами и кошачьей изоспорой в 2008 г. с последующими незначитель-

ными вариациями (рис. 3). Годовые колебания уровней зараженности гидатигерами и *I. rivolta* не являлись столь значительными, что свидетельству-

ет о наличии устойчивых сформированных очагов данных инвазий на обследованной территории.

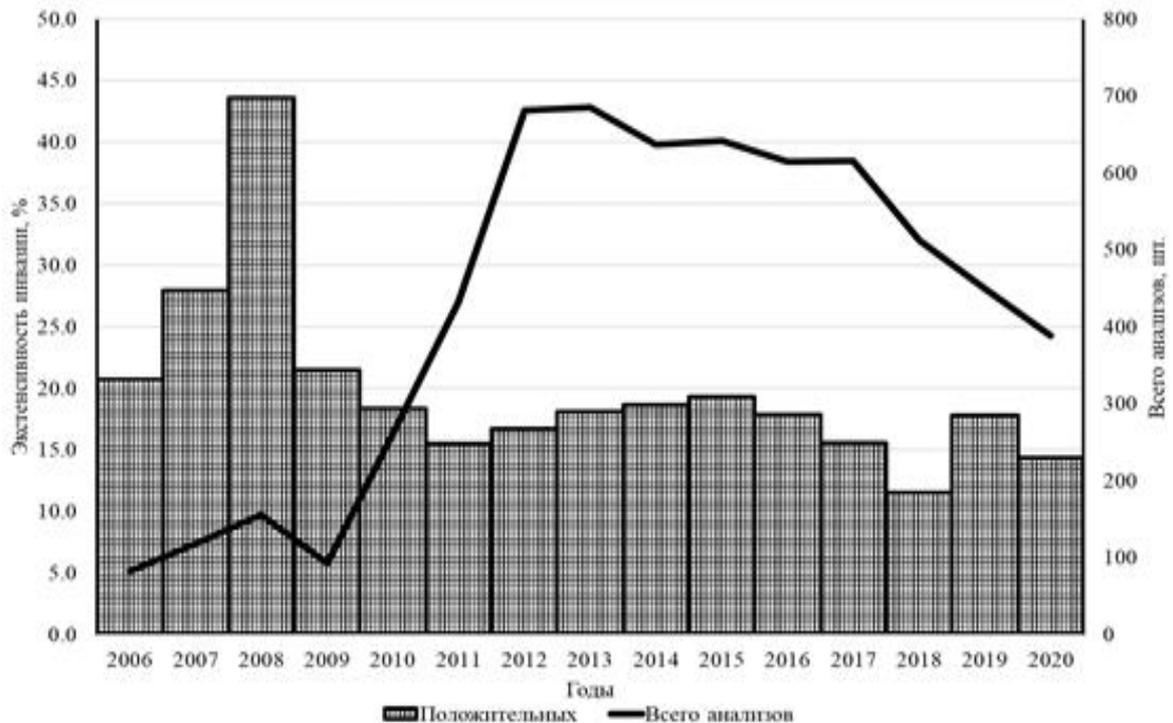


Рис. 1. Динамика количества копрологических анализов кошек и ЭИ за 15 лет

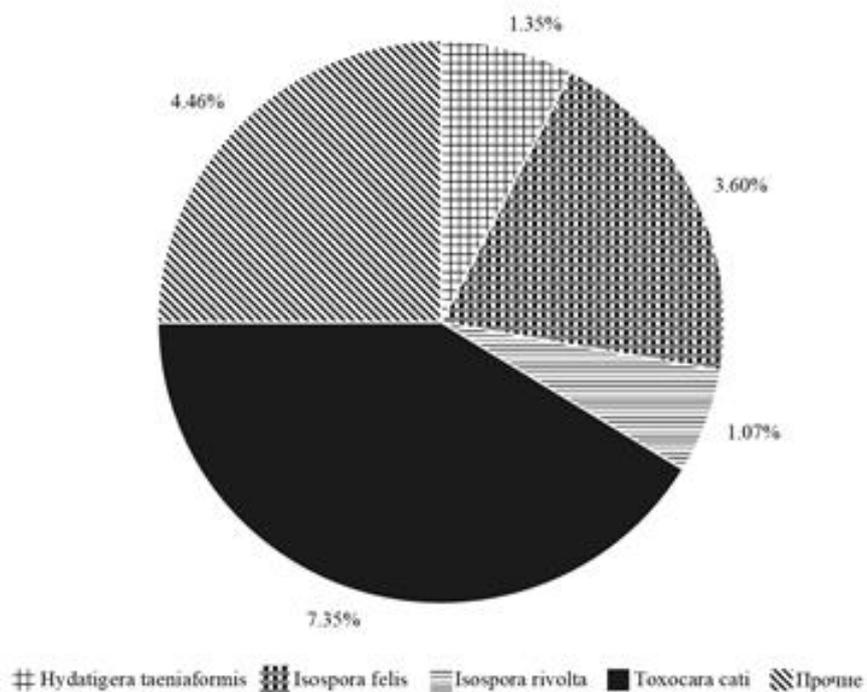


Рис. 2. ЭИ кошек отдельными гельминтами и простейшими

Определенный интерес представляет исследование сезонной динамики зараженности наиболее распространенными патогенами. Так, ЭИ *H. taeniaformis* претерпевала в течение года не-

значительные изменения (рис. 4) несмотря на то, что городские кошки заражаются, в основном, в теплый сезон года за городом при поедании грызунов. В то же время, выявление инвазии *T. cati*, для

которых мышевидные грызуны играют роль резервуарных хозяев, имело выраженный летний спад и осенний пик, который как раз связан с вышеоб-

значенными особенностями содержания домашних кошек [Beugnet et al., 2014].

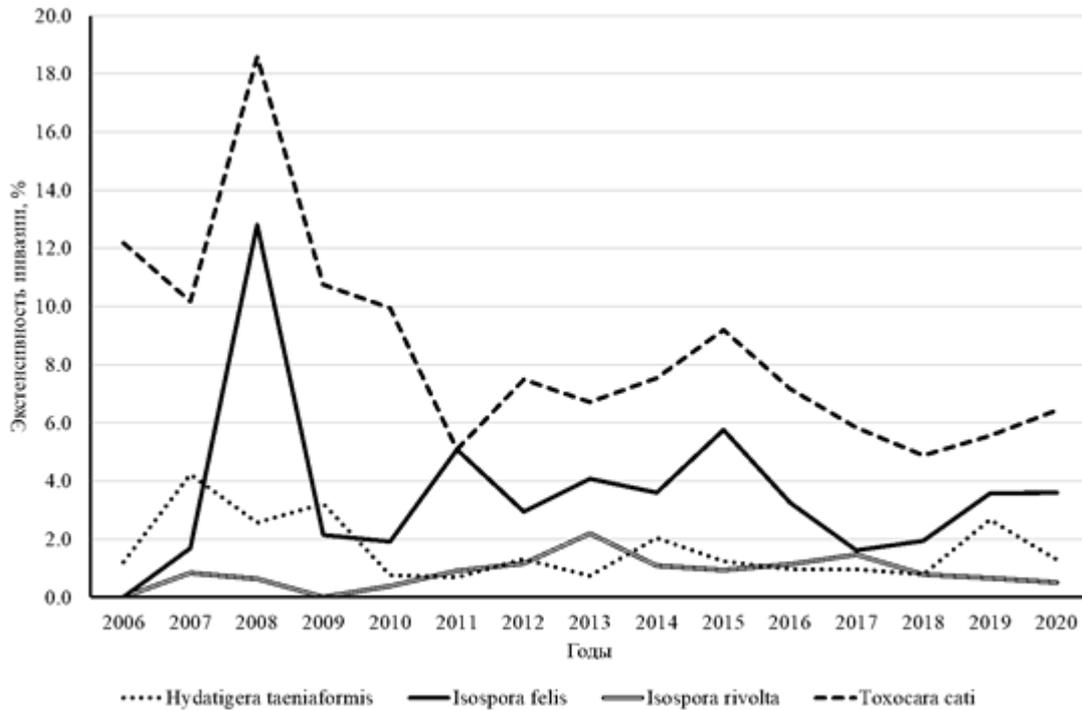


Рис. 3. Динамика ЭИ токсокарами, гидатигерами и изоспорами за 15 лет

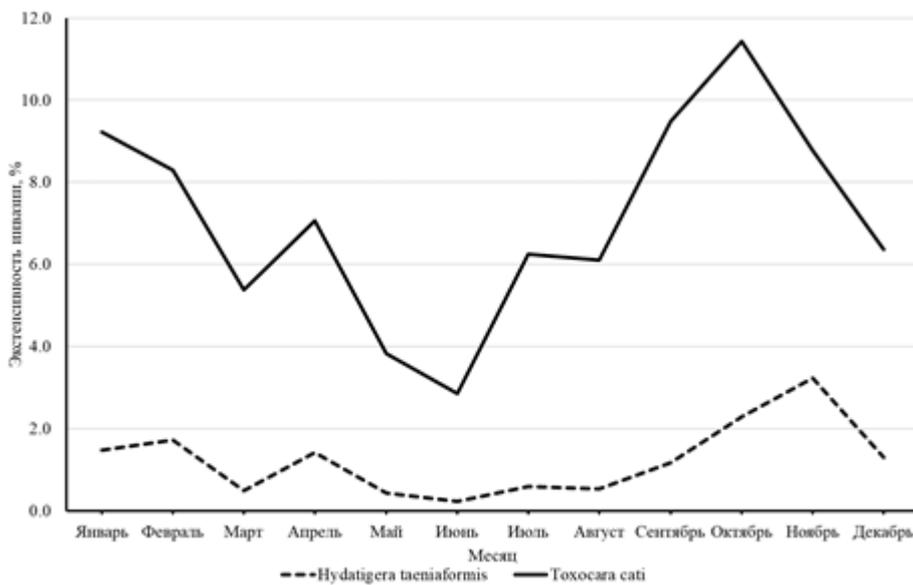


Рис. 4. Сезонная динамика ЭИ токсокарами и гидатигерами

Грызуны, инвазированные гипнозитами кошачьих кокцидий, зачастую становятся паратеническими хозяевами для них, в связи с чем в ЭИ представителями рода *Isospora spp.* также выражены подъемы в конце лета и осенью (рис. 5), причем пики инвазии проявляются несколько раньше, чем у токсокар, что определяется сравнительно более коротким периодом созревания простейших в кишечнике окончательных хозяев.

В целом, изучение взаимосвязи сезонных уровней инвазированности кошек гельминтами и простейшими позволяет четко проследить положительную корреляцию между *T. cati* и *H. taeniaformis* ($r_s = 0.832$; $p < 0.05$), *I. felis* и *I. rivolta* ($r_s = 0.853$; $p < 0.05$), что подтверждает высказанную выше теорию о наличии природных очагов указанных паразитозов и заражении домашних кошек через микромаммалий.

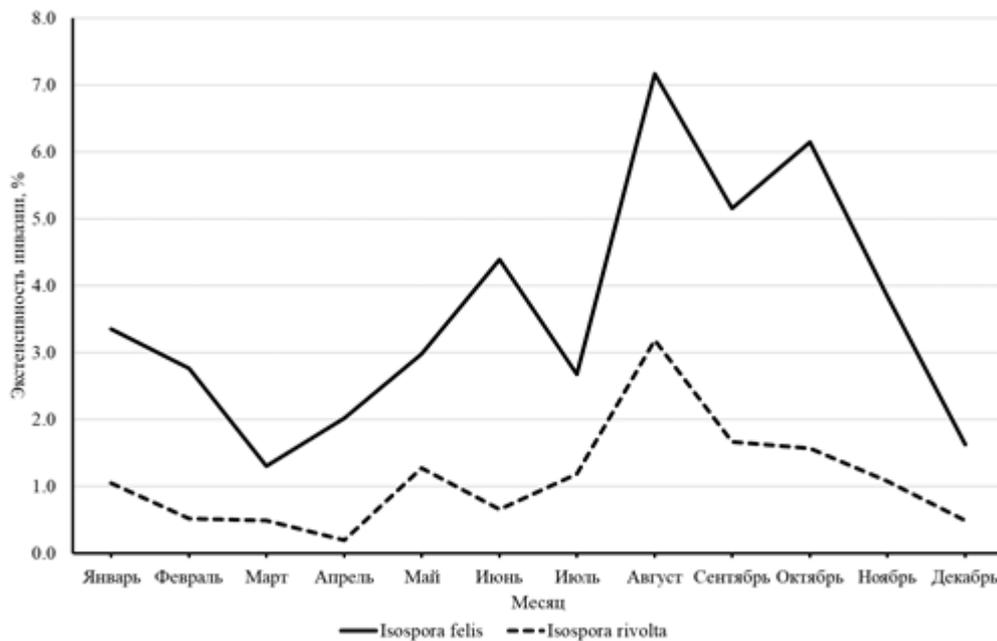


Рис. 5. Сезонная динамика ЭИ изоспорами

Заключение

Результаты 15-летних паразитологических исследований, направленных на изучение инвазии домашних кошек на территории г. Перми, подтвержденные методами вариационной статистики, позволили установить среднюю ЭИ кошек кишечными паразитами на уровне 17.97%, а также четкое доминирование *T. cati* (7.42%), *H. taeniaeformis* (1.38%), *I. felis* (3.85%) и *I. rivolta* (1.10%). Годовая динамика инвазий выражена незначительно, тогда как корреляция сезонных уровней инвазированности как гельминтами, так и простейшими, четко положительна между доминирующими видами ($p < 0.05$), что подтверждает наличие природных очагов указанных паразитозов и преимущественную роль грызунов в заражении домашних кошек, в связи с чем, актуальным становится вопрос изучения инвазированности мелких грызунов на территории г. Перми.

Список литературы

- Борцова М.С. Паразитозы и микстинвазии пищеварительной системы домашних плотоядных животных в условиях мегаполиса (г. Новосибирска) и его пригорода: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Тюмень, 2007. 19 с.
- Москвина Т.В., Железнова Л.В. Паразитарные болезни собак и кошек в г. Владивостоке // Российский паразитологический журнал. 2017. Т. 39, вып. 1. С. 55–58.
- Сергиев В.П. и др. Современная ситуация по паразитарным болезням собак и кошек в

мегаполисе Москвы // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2007. № 1. С. 17–20.

- Шималов В.В. Гидатигероз и стробилоцеркоз в республике Беларусь и их медицинское значение // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2009. № 2. С. 59–62.
- Beugnet F. et al. Parasites of domestic owned cats in Europe: co-infestations and risk factors // Parasites Vectors. 2014. Vol. 7, № 1. P. 291. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-291>.
- Fuentes F.M.V., Galan-Puchades M.T., Malone J. Short report: A new case report of human *Mesocystoides* infection in the United States // The American journal of tropical medicine and hygiene. June 2003. Vol. 68(5). P. 566–567.
- Hussam S. Al-Aredhi. Prevalence of gastrointestinal parasites in domestic cats (*Felis catus*) in Al-Diwaniya province (Iraq) // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2015. Vol. 4, № 5. P. 166–171.
- Kurnosova O.P., Arisov M.V., Odoyevskaya I.M. Intestinal parasites of pets and other house-kept animals in Moscow // Helminthologia. 2019. Vol. 56, № 2. P. 108–117.
- Peng Jiang et al. A Human Case of Zoonotic Dog Tapeworm, *Dipylidium caninum* (Eucestoda: Dilepidiidae), in China // Korean J. Parasitol. 2017 Feb. Vol. 55(1). P. 61–64.

References

- Borcova M.S. Parazitozy i mikstinvazii piščevitel'noj sistemy domašnih plotojadnych životnyh v uslovijach megapolisa (g. Novosibirsk) i

- ego prigoroda. Avtoref. diss. kand. vet. nauk* [Parasitosis and mixed invasions of the digestive system of domestic carnivores in a metropolis (Novosibirsk) and its suburbs. Abstract Cand. Diss.]. Tyumen', 2007. 19 p. (In Russ.).
- Moskvina T.V., Zheleznova L.V. [Parasitic diseases of dogs and cats in Vladivostok]. *Rossijskij parazitologičeskij žurnal*. V. 39, Iss. 1 (2017): pp. 55-58. (In Russ.).
- Sergiev V.P., Uspenskij A.V., Gorohov V.V., Romanenko N.A., Novosil'cev G.I., Peshkov R.A., Guzeeva M.V. [The current situation with parasitic diseases of dogs and cats in the Moscow metropolis]. *Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni*. N 1 (2007): pp. 17-20. (In Russ.).
- Shimalov V.V. [Hydatigerosis and strobilocerciasis in the Republic of Belarus and their medical significance]. *Medicinskaja parazitologija i parazitarnye bolezni*. N 2 (2009): pp. 59-62. (In Russ.).
- Beugnet F. et al. Parasites of domestic owned cats in Europe: co-infestations and risk factors. *Parasites & Vectors*. V. 7 (2014): p. 291. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-291>.
- Fuentes F.M.V., Galan-Puchades M.T., Malone J. Short report: A new case report of human Mesocestoides infection in the United States. *The American journal of tropical medicine and hygiene* V. 68(5) (June 2003): pp. 566-567.
- Hussam S. Al-Aredhi. Prevalence of gastrointestinal parasites in domestic cats (*Felis catus*) in Al-Diwaniya province (Iraq). *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*. V. 4, N 5 (2015): pp. 166-171.
- Kurnosova O.P., Arisov M.V., Odoyevskaya I.M. Intestinal parasites of pets and other house-kept animals in Moscow. *Helminthologia*. V. 56, N 2 (2019): pp. 108-117.
- Peng Jiang, Xi Zhang, Ruo Dan Liu, Zhong Quan Wang, Jing Cui. A Human Case of Zoonotic Dog Tapeworm, *Dipylidium caninum* (Eucestoda: Dilepididae), in China. *Korean J. Parasitol.* V. 55(1) (2017 Feb.): pp. 61-64.

Поступила в редакцию 27.05.2021

Об авторах

Сивкова Татьяна Николаевна, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры инфекционных болезней
ФГБОУ ВО Пермский государственный аграрно-технологический университет им. акад. Д.Н. Прянишникова
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0915-3540>
профессор кафедры зоологии позвоночных и экологии
ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
614000, г. Пермь, ул. Петропавловская, 23;
tatiana-sivkova@yandex.ru; (342)217974

Четанов Николай Анатольевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии позвоночных и экологии
ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8512-0244>
доцент кафедры биологии и географии
ФГБОУ ВО Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет
614068, Пермь, ул. Букирева, 15;
chetanov@yandex.ru; (342)2396440

Информация для цитирования:

Сивкова Т.Н., Четанов Н.А. Динамика зараженности домашних кошек в г. Перми // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2021. Вып. 2. С. 128–133. DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-128-133.

Sivkova T.N., Chetanov N.A. [Dynamics of parasitic infection in domestic cats in Perm city]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 2 (2021): pp. 128-133. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-128-133.

About the authors

Sivkova Tatiana Nikolaevna, doctor of biology, professor, professor of the Department of Infectious Diseases
Perm State Agrarian-Technical University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0915-3540>
professor of the Department of Vertebrate Zoology and Ecology
Perm State University.
23, Petropavlovskaya str., Perm, Russia, 614099;
tatiana-sivkova@yandex.ru; (342)217974

Chetanov Nikolay Anatolyevich, candidate of biology, associate professor of the Department of Vertebrate Zoology and Ecology
Perm State University.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8512-0244>
associate professor of the Department of Biology and Geography
Perm State Humanitarian Pedagogical University.
15, Bukirev str., Perm, Russia, 614068;
chetanov@yandex.ru; (342)2396440

УДК 581.1:632.122.1

DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-134-140.

Л. А. Чудинова, Д. Р. Юсупов

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОЙ ПРЕДОБРАБОТКИ НА КОНСТИТУТИВНУЮ И ИНДУЦИБЕЛЬНУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ ПРОРОСТКОВ РЖИ К ХЛОРИДНОМУ ЗАСОЛЕНИЮ

Изучали интенсивность роста проростков ржи, а также динамику содержания в побегах растворимых белков и пролина в процессе их адаптации к резкому (300 мМ NaCl однократно, время экспозиции 9 сут.) и постепенному (100 мМ NaCl, затем по 100 мМ NaCl через 2 сут. до конечной концентрации 400 мМ) засолению хлоридом натрия в условиях наличия или отсутствия теплового закаливания (+40°C, 3 ч.). Установленная динамика содержания пролина и растворимых белков в побегах позволяет предполагать, что формирование устойчивости к засолению определяется высоким конститутивным уровнем пролина, а также стресс-индуцибельным синтезом пролина и водорастворимых белков. Тепловая предобработка проростков в большей степени стимулировала их конститутивную устойчивость. Обнаруженные метаболические изменения, очевидно, имеют отношение к одному из возможных механизмов протекторного действия теплового закаливания к последующему засолению.

Ключевые слова: проростки ржи; засоление хлоридом натрия; тепловое закаливание; растворимые белки; пролин.

L. A. Chudinova, D. R. Yusupov

Perm State University, Perm, Russian Federation

Influence of temperature processing on the constitutive and inducible resistance of rye seedlings to chloride salinization

We studied the growth rate of rye seedlings, as well as the dynamics of the content of soluble proteins and proline in the shoots during their adaptation to sharp (300 mM NaCl once, exposure time 9 days) and gradual (100 mM NaCl, then 100 mM NaCl after 2 days to the final concentration of 400 mM) salinity with sodium chloride in the presence or absence of thermal hardening (+40°C, 3 h). The established dynamics of the content of proline and soluble proteins in the shoots suggests that the formation of resistance to salinity is determined by the high constitutive level of proline, as well as the stress-inducible synthesis of proline and water-soluble proteins. Thermal pretreatment of the seedlings stimulated their constitutive stability to a greater extent. The detected metabolic changes are obviously related to one of the possible mechanisms of the protective effect of thermal hardening on subsequent salinization.

Key words: rye seedlings; salting with sodium chloride; heat hardening; soluble proteins; proline.

Введение

Актуальность проблемы солеустойчивости растений определяется тем, что засоленные почвы снижают как продуктивность, так и биоразнообразие фитоценозов [Zhu J.-K., 2001; Чиркова, 2002]. В связи с этим вопрос о солеустойчивости растений, а также механизмы адаптации на молекулярном и молекулярно-генетическом уровне в настоящее время активно изучаются [Колупаев, Карпец, 2010].

Известно, что солеустойчивость растений определяется функционированием конститутивных и индуцибельных систем. Оба компонента устойчивости генетически детерминированы и направлены

на сохранение жизнеспособности организма в экстремальных условиях [Радюкина и др., 2007].

Принципиальное различие этих компонентов заключается в том, что конститутивные механизмы постоянно находятся в функционально активном состоянии, а индуцибельные – в норме отсутствуют и появляются лишь в ответ на действие повреждающего фактора. О конститутивной устойчивости растений свидетельствует их способность выживать в условиях шокового действия фактора высокой интенсивности, тогда как об индуцибельной устойчивости говорит способность постепенно адаптироваться к длительному действию стрессора возрастающей интенсивности [Радюкина и др., 2007].

Механизмы формирования стресс-индуцибельных защитных систем в условиях солевого стресса на сегодняшний день остаются недостаточно изученными. В этом плане особый интерес представляет кросс-адаптация (перекрестная адаптации), т.е. явление, когда действие одного неблагоприятного фактора среды приводит к повышению устойчивости растений к другим факторам. Оно известно довольно давно, но до сих пор его молекулярно-биохимические механизмы остаются до конца не выясненными.

В ряде исследований отмечается, что кратковременный тепловой шок оказывает протекторный эффект к последующим тепловому и холодному воздействиям, а также водному дефициту [Титов, Таланова, 2009]. В отношении комбинированного действия на растения закаливающих температур и засоления данных в литературе недостаточно.

Имеются основания считать, что в процессе перекрестной адаптации участвуют разнообразные низкомолекулярные соединения (пролин, органические кислоты, растворимые сахара, полиамины и др.), большинство из которых проявляет полифункциональность и выполняет протекторные функции [Карпец, Колупаев, 2009].

В связи с этим цель данной работы – исследование способности проростков ржи адаптироваться к засолению за счет функционирования конститутивных и стресс-индуцируемых защитных механизмов, а также влияние на эти процессы теплового закаливания.

Были поставлены следующие задачи: оценить влияние засоления NaCl (резкого и постепенного), а также предварительного теплового закаливания на ростовые процессы проростков ржи; изучить динамику водорастворимых белков и пролина в проростках ржи в контрольных и опытных вариантах.

Объект и методы исследований

Семена ржи посевной (*Secale cereale* L.) стерилизовали 20 мин. в 1–4%-ном растворе перманганата калия, затем выращивали в условиях водной культуры в пластиковых контейнерах (субстрат – керамзит с добавлением агроперлита) при комнатной температуре (20–23°C) в условиях естественного освещения. Восьмидневные проростки подвергали следующим стрессовым воздействиям:

1 серия – а) резкое засоление: 300 мМ NaCl однократно, время экспозиции 9 сут. и б) постепенное засоление: 100 мМ NaCl, затем по 100 мМ NaCl через 2 сут. до конечной концентрации 400 мМ;

2 серия – температурная предобработка +40°C в течение 3 ч. до засоления (резкого или постепенного).

Физиологические и биохимические показатели анализировали после 2-, 4-, 6- и 9-суточной экспозиции проростков в засоленной среде в первой половине дня. Для характеристики интенсивности

роста определяли длину побегов (30-кратная повторность). Содержание суммы водорастворимых белков определяли по методу с амидо-черным 10 В в сыром материале [Большой ..., 2012], количество пролина – методом L.S. [Bates, Waldren, Teatre, 1973] в растительном материале, фиксированном паром в течение 5 мин. и досушенном при +70°C.

Повторность биохимических анализов – трехкратная. Результаты обрабатывали статистически с использованием однофакторного дисперсионного анализа в программе Stadia. Определяли достоверность различий между некоторыми вариантами по наименьшей существенной разнице ($d > HCP_{0.05}$).

Результаты и обсуждение

При оценке устойчивости сортов и видов растений к различным экологическим факторам среды наиболее широко используются методы, в основе которых лежит реакция ростовых процессов, так как в большинстве случаев при стрессах различной природы наблюдается угнетение роста. По отклонению величины измеряемого показателя от контроля можно судить о силе воздействия фактора на растение и о степени его устойчивости [Титов, Таланова, 2009].

Как показали наши исследования (рис. 1, А), в условиях засоления наблюдалась общая тенденция уменьшения линейных размеров проростков ржи. При этом амплитуда зависела от характера засоления (резкого или постепенного). Так, при применении шокового засоления длина побега уменьшалась на 21% от контроля, а в условиях стресса, вызванного постепенным засолением – на 14% от контроля.

Отсюда можно предположить, что у проростков ржи при солевом стрессе, вызванном NaCl, в большей степени подавляется конститутивная устойчивость. Это согласуется с выводом некоторых авторов о том, что конститутивные протекторные системы лежат в основе солеустойчивости галофитов, тогда как устойчивость гликофитов основана главным образом на функционировании стресс-индуцируемых механизмов [Кузнецов, 2001].

Тепловое закаливание снижало ростингибирующий эффект засоления в отношении длины побегов, причем в большей степени в условиях резкого засоления (рис. 1, Б). По-видимому, тепловое закаливание повышает как конститутивную, так и индуцибельную солеустойчивость проростков ржи, причем более существенно – конститутивную.

Это согласуется с выводом ряда авторов о том, что адаптивные процессы, индуцированные в растении при первом воздействии, вызывают увеличение устойчивости ко второму, что обусловлено развитием преимущественно неспецифических ре-

акций (кросс-адаптация) [Титов, Таланова, 2009; Чудинова, Суворов, 2011].

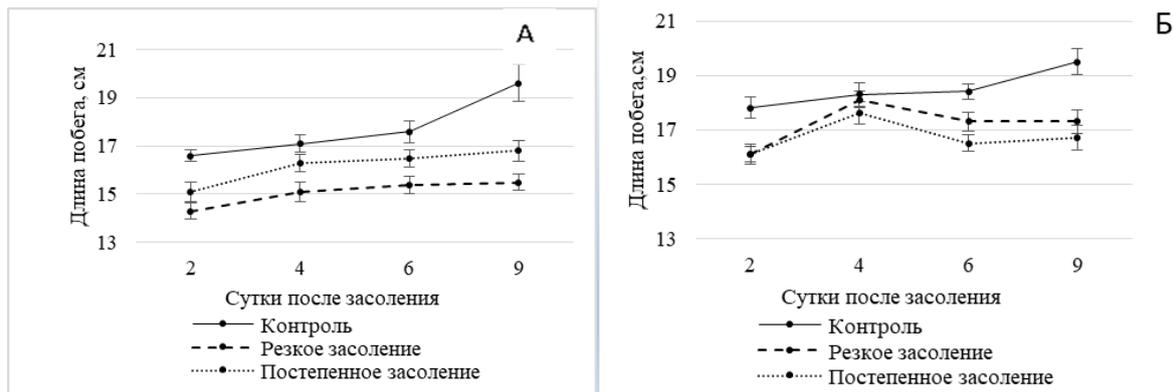


Рис. 1. Изменение интенсивности роста побегов ржи в условиях хлоридного засоления без температурной предобработки (А) и после температурной предобработки (Б).

Здесь и далее: резкое засоление – 300 мМ NaCl однократно; постепенное засоление – 100 мМ NaCl, затем по 100 мМ NaCl через 2 сут. до конечной концентрации 400 мМ; температурная предобработка +40°C в течение 3 ч. до засоления

Таким образом, наши данные и анализ литературы однозначно свидетельствуют о том, что у растений, наряду со специализированными адаптивными механизмами, существуют и общие механизмы устойчивости к засолению и неблагоприятным температурам. Это позволяет растению избежать огромных энергетических затрат, связанных с необходимостью формирования специализированных механизмов адаптации в ответ на любое отклонение условий обитания организма от нормальных. Ряд исследователей устойчивости к засолению и высокой температуре связывают с накоплением одних и тех же стрессовых белков [Ryu et al., 1995], этилена, пролина и путресцина [Кузнецов, 2001].

Маркером изменения метаболизма клеток в целом часто рассматривают белковый синтез, поскольку он является центральным звеном метаболизма и очень чувствителен к внешним условиям роста растений [Шевякова и др., 2013]. Об этом, в частности, говорит тот факт, что подавление белкового синтеза с помощью тех или иных ингибиторов транскрипции или трансляции препятствует росту устойчивости, а стимуляция работы белоксинтезирующего аппарата, наоборот, положительно сказывается на устойчивости [Карпец, Колупаев, 2009].

В связи с этим нами изучалось влияние засоления на содержание водорастворимых белков в побегах проростках ржи (рис. 2).

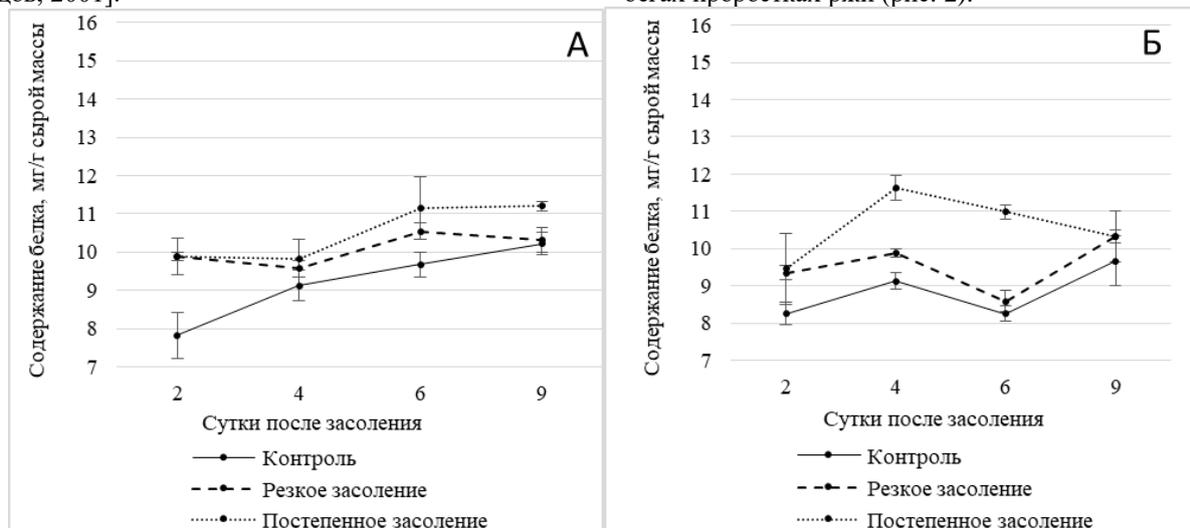


Рис. 2. Динамика содержания белка в побегах ржи в условиях хлоридного засоления без температурной предобработки (А) и после температурной предобработки (Б)

Полученные нами результаты показали, что у проростков ржи в ответ на действие резкого и постепенного хлоридного засоления уже через 2 сут.

наблюдался значительный рост содержания белка (на 27% выше контрольного), который сохранялся при увеличении продолжительности солевого

стресса до 9 сут. (рис. 2, А). Причем, в большей степени белок накапливался в условиях постепенного засоления, что говорит о преобладании стресс-индуцированного синтеза белка.

Под влиянием тепловой предобработки (рис. 2, Б) был отмечен более сильный рост содержания белка в условиях стресса, вызванного постепенным засолением по сравнению с вариантами без теплового закаливания. Это, очевидно, имеет отношение к одному из возможных механизмов протекторного действия теплового закаливания. В вариантах с резким засолением стимулирующее влияние тепловой предобработки на синтез белков было существенно слабее. Эффекты теплового закаливания растений, как правило, сопровождаются повышением термостабильности белков (в частности, ферментов) и, как результат, определенных функций клеток [Титов, Таланова, 2009].

На основании полученных результатов можно сделать предположение, что формирование конститутивной и индуцибельной устойчивости проростков ржи к хлоридному засолению связано с активированием синтеза водорастворимых белков, причем в большей степени за счет стресс-

индуцированного синтеза, который носит адаптивный характер.

По мнению многих авторов, аминокислота пролин, содержание которой в растениях увеличивается в несколько раз в условиях засухи, засоления, действия высоких и низких температур и других повреждающих факторов, может служить индикатором стресса [Hare, Cress, Van Staden, 2000; Кузнецов, 2001; Чиркова, 2002]. Среди стресс-протекторных функций пролина указываются функции химического шаперона, антиоксиданта, регулятора экспрессии стресс-регулируемых генов, источника углерода, азота и восстановительных эквивалентов, регулятора внутриклеточного рН-стата и т.д. [Колупасев, Вайнер, Ястреб, 2014; Ефимова и др., 2018].

Однако, несмотря на многолетнее изучение физиологических функций «стрессового» пролина, многие вопросы, связанные с его участием в адаптации растений к неблагоприятным условиям, остаются невыясненными.

В связи с этим в нашем эксперименте было определено количество пролина в побегах проростков ржи (рис. 3).

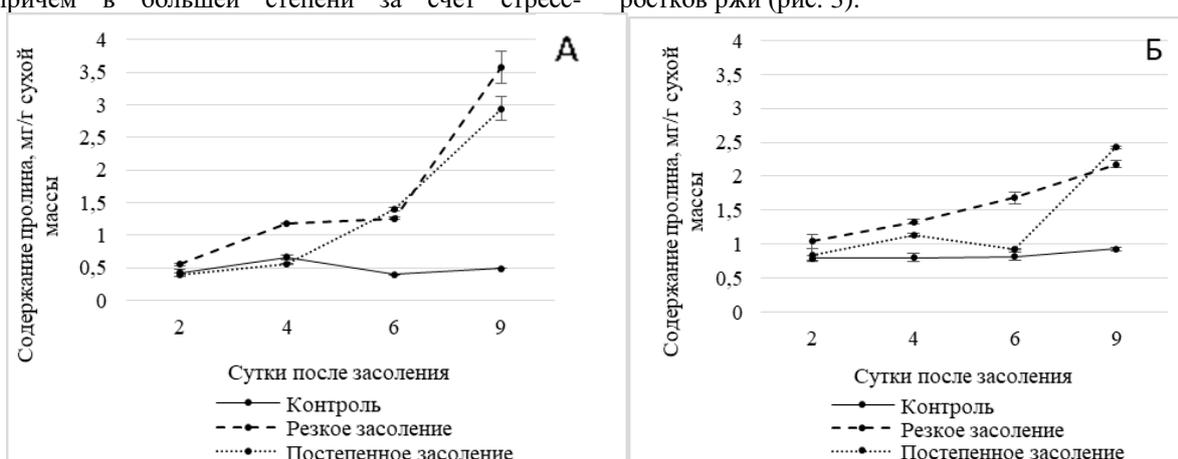


Рис. 3. Динамика содержания пролина в побегах ржи в условиях хлоридного засоления без температурной предобработки (А) и после температурной предобработки (Б)

Полученные результаты показали значительный рост концентрации пролина в условиях засоления по мере увеличения времени экспозиции проростков ржи в солевом растворе. Так, при 9-суточном солевом шоке содержание пролина превысило контроль более чем в 7, а в условиях постепенного засоления – в 6 раз (рис. 3, А).

Предварительное тепловое закаливание изменило динамику протекания этого процесса в том плане, что рост концентрации пролина при увеличении времени экспозиции на солевом растворе был постепенным и менее значительным – не более чем в 2.6 раза относительно контроля (рис. 3, Б).

Резюмируя эту часть наших исследований, можно предположить, что у данного вида имеет место как индуцибельный, так и конститутивный синтез проли-

на с преобладанием последнего. Сходная динамика пролина была отмечена в литературе [Kant et al, 2006; Ахмад, Джалил, Шарма, 2010; Чудинова, Суворов, 2011; Шевякова и др., 2013]. Делается предположение, что регуляция ферментов синтеза пролина осуществляется не только на транскрипционном, но и на пост-транскрипционном уровнях [Радюкина и др., 2007].

В отношении динамики пролина при тепловом закаливании мнения авторов расходятся. В одних работах указывается, что кратковременный тепловой шок стимулирует способность растений аккумулировать пролин в условиях последующих почвенной засухи или засоления. В других говорится, что тепловой шок сам по себе не индуцирует синтез пролина, а лишь делает растения компетент-

ными ответить на действие последующих стрессоров [Кузнецов, 2001].

В нашем эксперименте в вариантах с предварительным тепловым закаливанием, в целом, уровень пролина оставался выше контрольного. Однако рост его концентрации при увеличении времени экспозиции на солевом растворе был постепенным и менее значительным. Причиной этого может быть создание дефицита глутамата, необходимого для биосинтеза пролина [Радюкина и др., 2007], поскольку происходит интенсивный расход этой аминокислоты на синтез стрессовых белков, который стимулируется тепловым закаливанием. Можно предположить также, что тепловое закаливание изменяет вклад различных биологических функций пролина, а также других низкомолекулярных протекторов в формирование толерантности растений в зависимости от стадии адаптационного процесса, так называемое «разделение труда» между разными низкомолекулярными протекторами. Это согласуется с данными литературы [Чудинова, Суворов, 2011; Колупаев, Вайнер, Ястреб, 2014].

Заключение

Резюмируя полученные нами данные, следует отметить:

- солевой шок оказывает достоверно более сильное ингибирующее влияние на интенсивность роста проростков ржи, чем постепенное засоление. Отсюда можно предположить, что у данного вида гликофитов наиболее активны стресс-индуцибельные механизмы устойчивости, а не конститутивные;

- тепловая предобработка (+40°C в течение 3 ч.) проростков ржи изменяет их ростовую реакцию на последующее хлоридное засоление, способствуя смягчению неблагоприятного действия как резкого, так и постепенного засоления. При этом в большей степени стимулируется конститутивная устойчивость;

- динамика пролина и растворимого белка в побегах проростков ржи в норме и при солевом стрессе позволяет предполагать, что формирование устойчивости к засолению определяется высоким конститутивным уровнем пролина, а также стресс-индуцибельным синтезом пролина и водорастворимых белков. Обнаруженные изменения в метаболизме пролина и растворимых белков, очевидно, имеют отношение к одному из возможных механизмов протекторного действия теплового закаливания к последующему засолению.

Список литературы

Ахмад П., Джалил К.А., Шарма С. Влияние солевого стресса на систему антиоксидантной защиты, перекисное окисление липидов, ферменты

метаболизма пролина и биохимическую активность у двух генотипов шелковицы // Физиология растений. 2010. Т. 57, № 4. С. 547–555.

Большой практикум «Биохимия»: лабораторные работы / сост. М.Г. Кусакина, В.И. Суворов, Л.А. Чудинова. Пермь, 2012. С. 26–35.

Ефимова М.В. и др. Физиологические механизмы устойчивости растений *Solanum tuberosum* L. к хлоридному засолению // Физиология растений. 2018. Т. 65, № 3. С. 196–206.

Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е. Ответ растений на гипертермию: молекулярно-клеточные аспекты // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Серия: Биология. 2009. Вып. 1 (16). С. 19–38.

Колупаев Ю.Е., Вайнер А.А., Ястреб Т.О. Проллин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Серия: Биология. 2014. № 2. С. 6–22.

Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Формирование адаптивных реакций растений на действие абиотических стрессоров. Киев: Основа, 2010. 352 с.

Кузнецов В.В. Общие системы устойчивости и трансдукция стрессорного сигнала при адаптации растений к абиотическим факторам // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия: Биология. 2001. Б/н. С. 64–68.

Радюкина Н.Л. и др. Изучение индуцибельных и конститутивных механизмов устойчивости к солевому стрессу у гравилата городского // Физиология растений. 2007. Т. 54, № 5. С. 692–698.

Титов А.Ф., Таланова В.В. Устойчивость растений и фитогормоны. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2009. 206 с.

Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2002. 244 с.

Чудинова Л.А., Суворов В.И. Роль некоторых низкомолекулярных соединений в механизме перекрестной адаптации растений // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. 2011. Вып. 1. С. 17–20.

Шевякова Н.И. и др. Регуляция абсцизовой кислотой содержания полиаминов и пролина в растениях фасоли при солевом стрессе // Физиология растений. 2013. Т. 60, № 1. С. 1–13.

Bates L.S., Waldren R.P., Teatre I.D. Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies // Plant and Soil. 1973. Vol. 39. P. 205–207.

Hare P.D., Cress W.A., Van Staden J. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction // Journal of experimental botany. 1999. Vol. 50, № 333. P. 413–434.

Kant S. et al. Evidence that differential gene expression between the halophyte *Thellungiella halophila* and *Arabidopsis thaliana* is responsible for higher levels of the compatible osmolyte proline and tight control of Na⁺ uptake in *T. halophila* // *Plant Cell and Environment*. 2006. Vol. 29, № 7. P. 1220–1234.

Ryu S.B. et al. Induction of cold hardiness by salt stress involved synthesis of cold and abscisic acid-responsive proteins in potato (*Solanum commersonii* Dun.) // *Plant and cell physiology*. 1995. Vol. 36, № 7. P. 1245–1251.

Zhu J.K. Plant salt tolerance // *Trends Plant Sci*. 2001. Vol. 6. P. 66–71.

References

Akhmad P., Jalil K.A., Sharma S. [The effect of salt stress on the antioxidant defense system, lipid peroxidation, enzymes of proline metabolism, and biochemical activity in two mulberry genotypes]. *Fiziologija rastenij*. V. 57, N 4 (2010): pp. 547–555. (In Russ.).

Kusakina M.G., Suvorov V.I., Chudinova L.A., comps. *Bol'shoj praktikum "Biochimija"* [Large workshop "Biochemistry": laboratory work]. Perm, 2012, pp. 26–35. (In Russ.).

Efimova M.V., Kolomeichuk L.V., Boyko E.V., Malofiy M.K. et al. [Physiological mechanisms of resistance of *Solanum tuberosum* L. plants to chloride salinization]. *Fiziologija rastenij*. V. 65, N 3 (2018): pp.196–206. (In Russ.).

Karpets Y.V., Kolupaev Yu.E. [Plant Response to hyperthermia: molecular and cellular aspects]. *Vestnik Char'kovskogo nacional'nogo agrarnogo universiteta. Serija Biologija*. Iss. 1 (16) (2009): pp. 19–38. (In Russ.).

Kolupaev Yu.E., Vainer A.A., Yastreb T.O. [Proline: physiological functions and regulation of content in plants under stressful conditions]. *Vestnik Char'kovskogo nacional'nogo agrarnogo universiteta. Serija Biologija*. N 2 (2014): pp. 6–22. (In Russ.).

Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V. *Formirovanie adaptivnykh reakcij rastenij na dejstvie abiotičeskikh stressorov*. [Formation of plant adaptive responses to abiotic stressors]. Kiev, Osnova Publ., 2010. 352 p. (In Russ.).

Kuznetsov V.I. [General resistance systems and stress signal transduction during plant adaptation to abiotic factors]. *Vestnik Nižegorodskogo universiteta imeni N.I. Lobačevskogo. Serija: Bi-*

ologija. Without a number (2001): pp. 64–68. (In Russ.).

Radyukina N.L., Ivanov Yu.V., Kartashov A.V. et al. [Study of inducible and constitutive mechanisms of resistance to salt stress in urban gravity]. *Fiziologija rastenij*. V. 54, N 5 (2007): pp. 692–698. (In Russ.).

Titov A.F., Talanova V.V. *Ustojčivost' rastenij i fitogormony* [Stability of plants and phytohormones]. Petrozavodsk, Karel'skij nauchnyj centr RAN Publ., 2009. 206 p. (In Russ.).

Chirkova T.V. *Fiziologičeskie osnovy ustojčivosti rastenij* [Physiological foundations of plant resistance]. SPb., SPbGU Publ., 2002. 244 p. (In Russ.).

Chudinova L.A., Suvorov V.I. [The role of some low-molecular compounds in the mechanism of cross-adaptation of plants]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 1 (2011): pp. 17–20. (In Russ.).

Shevyakova N.I., Musatenko L.I., Stetsenko L.A., Vedenicheva N.P., Voitenko L.P., Sytnik K.M., Kuznetsov V.V. [Abscisic acid regulation of the content of polyamines and proline in bean plants under salt stress]. *Fiziologija rastenij*. V. 60, N 1 (2013): pp. 1–13. (In Russ.).

Bates L.S. Waldren R.P., Teatre I.D. Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies. *Plant and Soil*. V. 39 (1973): pp. 205–207.

Hare P.D., Cress W.A., Van Staden J. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. *Journal of experimental botany*. V. 50, N 333 (1999): pp. 413–434.

Kant S., Kant P., Raveh E., Barak S. Evidence that differential gene expression between the halophyte *Thellungiella halophila* and *Arabidopsis thaliana* is responsible for higher levels of the compatible osmolyte proline and tight control of Na⁺ uptake in *T. halophila*. *Plant Cell and Environment*. V. 29, N 7 (2006): pp. 1220–1234.

Ryu S.B., Costa A., Xin Z., Li P.H. Induction of cold hardiness by salt stress involved synthesis of cold and abscisic acid-responsive proteins in potato (*Solanum commersonii* Dun.). *Plant and cell physiology*. V. 36, N 7 (1995): pp. 1245–1251.

Zhu J.K. Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci*. V. 6 (2001): pp. 66–71.

Поступила в редакцию 15.03.2021

Об авторах

Чудинова Лариса Алексеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии растений и экологии почв ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
ORCID: 0000-0002-7143-3845
614068, Пермь, ул. Букирева, 15;
Chudinova.Lar@psu.ru; +79128810860

Юсупов Денис Рустамович, студент биологического факультета ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
ORCID: 0000-0001-9822-4480
614025, Пермь, ул. Серпуховская, 8, кв. 94

About the authors

Chudinova Larisa Alekseevna, candidate of biology, associate professor of the Department of plant physiology and soil ecology Perm State University.
ORCID: 0000-0002-7143-3845
15, Bukirev str., Perm, Russia, 614068;
Chudinova.Lar@psu.ru; +79128810860

Yusupov Denis Rustamovich, student of Biological faculty Perm State University.
ORCID: 0000-0001-9822-4480
Serpukhovskaya str., 8-94, Perm, Russia, 614025

Информация для цитирования:

Чудинова Л.А., Юсупов Д.Р. Влияние температурной предобработки на конститутивную и индуцибельную устойчивость проростков ржи к хлоридному засолению // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2021. Вып. 2. С. 134–140. DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-134-140.

Chudinova L.A., Yusupov D.R. [Influence of temperature processing on the constitutive and inducible resistance of rye seedlings to chloride salinization]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 2 (2021): pp. 134-140. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-134-140.

ИММУНОЛОГИЯ

УДК 612.086

DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-141-146.

Е. В. Сайдакова^{a,b}, Л. Б. Королевская^a, В. В. Власова^a

^a "Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН" – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

^b Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

ХАРАКТЕР СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У ВИЧ/ВГС КОИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ С ДИСКОРДАНТНЫМ ОТВЕТОМ НА АНТИРЕТРОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ

Цель работы – характеристика системного воспаления у ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов с дискордантным ответом на лечение. Были обследованы: 1) ВИЧ/ВГС коинфицированные лица с дискордантным ответом на терапию (CD4+ Т-клетки менее 350/мкл); 2) ВИЧ/ВГС коинфицированные пациенты со стандартным ответом на терапию (CD4+ Т-лимфоциты более 350/мкл); 3) добровольные доноры крови без ВИЧ и ВГС инфекций. Показатели системного воспаления оценивали по содержанию в плазме крови провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (эотаксин, IL-1β, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, MCP-1, MIP-1α, MIP-1β, IP-10, TNFα, TGF-β1, TGF-β2), уровни которых устанавливали методами мультиплексного и иммуноферментного анализов. В результате было установлено, что у ВИЧ/ВГС коинфицированных больных терапевтически неконтролируемое течение гепатита С приводит к развитию выраженного системного воспаления, которое лишь незначительно усугубляется при наличии дискордантного ответа на высокоактивную антиретровирусную терапию.

Ключевые слова: ВИЧ/ВГС коинфекция; системное воспаление; провоспалительные цитокины; противовоспалительные цитокины; иммуноферментный анализ; мультиплексный анализ.

Е. V. Saidakova^{a,b}, L. B. Korolevskaya^a, V. V. Vlasova^a

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

^b Perm State University, Perm, Russian Federation

Systemic inflammation in HIV/HCV coinfecting patients with discordant response to antiretroviral therapy

In HIV-positive patients, hepatitis C virus (HCV) coinfection is associated with the development of severe systemic inflammation and an increased risk of a discordant response to highly active antiretroviral therapy in which suppressed viral replication doesn't lead to effective CD4+ T-cell regeneration. At the same time, the data on the systemic inflammation in HIV/HCV coinfecting patients with ineffective restoration of CD4+ T-cell counts during therapy are limited. The aim of this work was to characterize systemic inflammation in HIV/HCV coinfecting patients with a discordant response to treatment. We studied three groups: 1) HIV/HCV coinfecting subjects with a discordant response to therapy (CD4+ T-cells less than 350/ul); 2) HIV/HCV coinfecting patients with a standard response to therapy (CD4+ T-lymphocytes over 350/ul); 3) voluntary blood donors without HIV and HCV infections. Systemic inflammation indices were assessed by the content of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in blood plasma (eotaxin, IL-1β, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, MCP-1, MIP-1α, MIP-1β, IP-10, TNFα, TGF-β1, TGF-β2), the levels of which were analyzed by multiplex and enzyme-linked immunosorbent assays. As a result it was shown that in HIV/HCV coinfecting patients, therapeutically uncontrolled hepatitis C leads to the development of pronounced systemic inflammation, which is only slightly aggravated by a discordant response to highly active antiretroviral therapy.

Key words: HIV/HCV coinfection; systemic inflammation; proinflammatory cytokines; anti-inflammatory cytokines; enzyme-linked immunosorbent assay; multiplex assay.

Введение

В Пермском крае, как и в других регионах России, широко распространена коинфекция вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) и вирусом гепа-

тита С (ВГС) [Жердева и др., 2008; Шмагель, Шмагель, Черешнев, 2011; Саттарова, 2014]. По сравнению с ВИЧ моноинфицированными субъектами для ВИЧ/ВГС коинфицированных больных характерно усиленное системное воспаление, кото-

рое связано с увеличением риска развития СПИД-неассоциированных заболеваний и смерти [Chen et al., 2009]. Более того, у ВИЧ-положительных больных наличие коинфекции ВГС повышает вероятность развития дискордантного ответа на фоне приема высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ). При этом типе ответа на лечение подавление репликации ВИЧ под действием антиретровирусных препаратов не сопровождается значительным приростом в крови численности CD4⁺ Т-лимфоцитов [Autran et al., 1999]. Глубокая хроническая лимфопения дополнительно увеличивает риск развития СПИД и смерти иммунодискордантных ВИЧ-положительных лиц [Gutierrez et al., 2008]. Вместе с тем, данные литературы о характере системного воспаления у ВИЧ/ВГС коинфицированных больных с неэффективным восстановлением численности CD4⁺ Т-лимфоцитов на фоне ВААРТ ограничены.

Цель настоящей работы – характеристика системного воспаления у ВИЧ/ВГС коинфицированных пациентов с дискордантным ответом на ВААРТ.

Материалы и методы исследований

План работы и форма информированного согласия участника исследования были одобрены этическим комитетом Пермского краевого центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (регистрационный номер IRB00008964). В исследование были включены ВИЧ/ВГС коинфицированные пациенты, приверженные ВААРТ более двух лет. Критериями включения в исследование были: вирусная нагрузка ВИЧ менее 50 копий/мл, начало терапии с числом CD4⁺ Т-клеток менее 200/мкл, отсутствие лечения интерферонами или анти-ВГС препаратами прямого действия. Были сформированы две группы: 1) больные с дискордантным ответом на ВААРТ (число периферических CD4⁺ Т-клеток менее 350/мкл; иммунологические неответчики «ИН»; n=21); 2) пациенты со стандартным ответом на терапию (число CD4⁺ Т-лимфоцитов более 350/мкл крови; иммунологические ответчики «ИО», n=20). В контрольную группу (К) вошли 23 добровольца без ВИЧ и ВГС инфекций. Каждый обследованный дал письменное согласие на участие в исследовании.

Кровь забирали из кубитальной вены в пробирки, обработанные ЭДТА. Плазму крови отделяли от форменных элементов центрифугированием, после чего концентрацию ВИЧ и ВГС определяли, соответственно, с использованием наборов «Versant 3 HIV-1 RNA 3.0 assay b» (Bayer Diagnostic, США) на анализаторе Versant 440 (Siemens, Германия) и «ОТ-Гепатоген-С» (ДНК-Технология, Россия) на термоциклере iCycler IQ5

(BioRad, США) согласно инструкциям производителей. Численность CD4⁺ Т-лимфоцитов крови устанавливали с применением коммерческого набора Immunocytometry Systems (BDIS) Simultest™ (Becton Dickinson, США) на проточном цитофлуориметре CytoFLEX S (Beckman Coulter, США).

Системное воспаление оценивали по содержанию в плазме крови провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Уровни эотаксина, IL-1β, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, MCP-1 (MCAF), MIP-1α, MIP-1β, IP-10, TNFα, TGF-β1, TGF-β2 устанавливали методами мультиплексного (BioPlex Pro Human Cytokine Standard 27-Plex, Group I, BIO-RAD, США) и иммуноферментного анализов (R&D Systems, США).

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием непараметрических методов. В выборке рассчитывали медиану и интерквартильный размах (25–75 перцентиль). Достоверность различий между группами определяли с помощью U-критерия Манна–Уитни. Проведение статистических расчетов осуществляли с использованием пакета программ Microsoft Office.

Результаты и их обсуждение

Пациенты трех групп не отличались по возрасту ($P > 0.05$) и полу ($P > 0.05$). Средний возраст субъектов составил: ИН – 37 лет (34–38 лет); ИО – 36 лет (34–39 лет); К – 32 года (29–39 лет). Доля женщин в каждой группе составила: ИН – 47.6%; ИО – 50.0%; К – 65.2%. Ввиду того, что критерием разделения пациентов на клинические группы было абсолютное количество периферических CD4⁺ Т-лимфоцитов, более глубокий иммунодефицит был выявлен у иммунодискордантных больных: ИН – 251.9/мкл (191.2–296.1/мкл); ИО – 473.7/мкл (387.7–616.9/мкл); К – 885.1/мкл (772.2–1261.9/мкл) ($P_{ин-ио} < 0.001$; $P_{ин-к} < 0.001$; $P_{ио-к} < 0.001$).

Оценка концентраций провоспалительных цитокинов и хемокинов показала, что их содержание было повышено в плазме крови ВИЧ/ВГС коинфицированных больных по сравнению со здоровыми субъектами. Так, у инфицированных лиц было отмечено увеличение концентрации IL-1β, эотаксина, IP-10, MCP1, MIP1α, MIP1β и TNFα (табл. 1). Вместе с тем, мы не выявили статистически значимых отличий между показателями среди групп ВИЧ/ВГС коинфицированных больных с различной эффективностью ответа на ВААРТ. У пациентов, давших дискордантный ответ на лечение, при их сравнении с лицами, стандартно отвечающими на терапию, было выявлено лишь незначительное повышение содержания ряда провоспалительных медиаторов: IP-10, MIP1α, MIP1β, TNFα. Таким образом, становится очевидно, что у ВИЧ/ВГС ко-

инфицированных больных терапевтически неконтролируемое течение гепатита С приводит к развитию выраженного системного воспаления, которое

лишь незначительно усугубляется при дискордантном ответе на ВААРТ.

Таблица 1

Содержание провоспалительных цитокинов и хемокинов в крови ВИЧ/ВГС коинфицированных больных с различной эффективностью ответа на антиретровирусную терапию

Показатель	ИН	ИО	К
IL-1 β , пг/мл	0,07 (0,03–0,01) P _{ИН-К} <0,01	0,08 (0,05–0,15) P _{ИО-К} <0,001	0,03 (0–0,04)
Эотаксин, пг/мл	5,75 (3,90–7,70) P _{ИН-К} <0,05	5,90 (4,44–8,35) P _{ИО-К} <0,05	3,96 (2,30–5,13)
IP-10, пг/мл	248,80 (143,14–307,80) P _{ИН-К} <0,001	194,76 (151,48–275,36) P _{ИО-К} <0,001	63,98 (45,69–107,23)
MCP1, пг/мл	1,93 (1,28–2,88) P _{ИН-К} <0,05	2,20 (1,77–3,56) P _{ИО-К} <0,05	0,97 (0,64–2,33)
MIP1 α , пг/мл	0,20 (0,08–0,43) P _{ИН-К} <0,01	0,16 (0,09–0,57) P _{ИО-К} <0,01	0 (0–0,16)
MIP1 β , пг/мл	4,22 (3,46–8,46) P _{ИН-К} <0,05	3,94 (3,04–6,62)	2,81 (2,46–9,16)
TNF α , пг/мл	1,68 (0,54–2,37) P _{ИН-К} <0,05	1,58 (0,62–2,53) P _{ИО-К} <0,05	0,67 (0–1,48)

Примечание. ВИЧ – вирус иммунодефицита человека, ВГС – вирус гепатита С, ИН – иммунологические неответчики, ИО – иммунологические ответчики, К – контроль. Статистический анализ выполнен по методу Манна-Уитни.

Следует отметить, что исход воспалительной реакции определяется балансом про- и противовоспалительных медиаторов [Commins, Borish, Steinke, 2010; Hammerich, Taske, 2014]. Поэтому, оценивая лишь провоспалительные факторы, мы обращаем внимание только на одну сторону про-

цесса. Анализ противовоспалительных и иммунорегуляторных цитокинов показал, что их концентрация повышена в плазме крови ВИЧ/ВГС коинфицированных больных по сравнению со здоровыми субъектами (табл. 2).

Таблица 2

Содержание противовоспалительных цитокинов в крови ВИЧ/ВГС коинфицированных больных с различной эффективностью ответа на антиретровирусную терапию

Показатель	ИН	ИО	К
IL-4, пг/мл	0,11 (0–0,26) P _{ИН-К} <0,05	0,05 (0–0,24) P _{ИО-К} <0,05	0 (0–0,08)
IL-5, пг/мл	2,18 (0,93–2,52) P _{ИН-К} <0,05	2,06 (1,85–2,31) P _{ИО-К} <0,05	1,85 (0–1,93)
IL-10, пг/мл	0,54 (0,19–1,15)	0,91 (0,29–1,29)	0,54 (0–0,91)
IL-13, пг/мл	0,34 (0,23–0,52) P _{ИН-ИО} <0,01	0,62 (0,42–0,99) P _{ИО-К} <0,01	0,23 (0,11–0,51)
TGF- β 1, пг/мл	9792,2 (7717,9–13290,1)	9257,1 (6666,5–15939,6)	9002,2 (6989,3–10910,9)
TGF- β 2, пг/мл	38,5 (34,8–65,5)	54,2 (34,8–76,3)	41,8 (33,5–72,9)

Примечание. ВИЧ – вирус иммунодефицита человека, ВГС – вирус гепатита С, ИН – иммунологические неответчики, ИО – иммунологические ответчики, К – контроль. Статистический анализ выполнен по методу Манна-Уитни.

Так, у ВИЧ/ВГС коинфицированных лиц, получающих ВААРТ, было увеличено содержание таких цитокинов, как IL-4, IL-5 и IL-13. Вместе с тем, мы не отметили статистически значимого увеличения продукции IL-10, TGF- β 1 или TGF- β 2. Также мы не выявили различий в уровнях противовоспалительных или иммунорегуляторных цитокинов между группами ВИЧ/ВГС коинфицированных лиц с дискордантным и стандартным ответом на ВААРТ. Таким образом, у ВИЧ/ВГС коинфи-

цированных субъектов повышенный уровень провоспалительных цитокинов лишь частично компенсируется увеличенной секрецией противовоспалительных медиаторов.

Известно, что как для ВИЧ-инфекции, так и для гепатита С характерно наличие системного воспаления [Martinez-Esparza et al., 2015; Raffetti et al., 2017]. При ВИЧ-инфекции хроническое воспаление, в значительной мере, обусловлено активацией иммунитета в ответ на микробы и их продукты,

поступающие в кровоток из поврежденного кишечника [Brenchley et al., 2006].

При ВГС-инфекции системное воспаление, в основном, является следствием ответа цитотоксических Т-клеток на прямое инфицирование гепатоцитов вирусом [de Oca Arjona et al., 2011]. Вне зависимости от причины системное воспаление является основным фактором риска развития многих заболеваний, в том числе, кардиоваскулярных, онкологических, СПИД-неассоциированных [Duprez et al., 2012; Borges et al., 2013; Tenorio et al., 2014], а также смертности от различных причин [Tien et al., 2010].

Для определения характера системного воспаления необходимо исследовать различные показатели, так как при его развитии продуцируются и провоспалительные, и противовоспалительные цитокины [Hammerich, Tacke, 2014; Commins, Borish, Steinke, 2010; Netea et al., 2017]. Провоспалительные цитокины стимулируют иммунные реакции, целью которых является элиминация патогена. В свою очередь, продукция противовоспалительных медиаторов направлена на контроль над избыточными иммунными реакциями. В представленной работе показано, что при ВИЧ/ВГС коинфекции развивается выраженное системное воспаление, которое лишь частично компенсируется противовоспалительными факторами. При этом глубокая CD4⁺ Т-лимфопения у ВИЧ/ВГС коинфицированных больных с дискордантным ответом на ВААРТ сопровождается лишь незначительным повышением уровня провоспалительных цитокинов в крови пациентов.

Заключение

Таким образом, можно сделать предположение, что увеличение риска развития СПИД-неассоциированных заболеваний и смерти, характерное для ВИЧ/ВГС коинфицированных больных с дискордантным ответом на ВААРТ, лишь частично обусловлено системным воспалением.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Пермского края в рамках научного проекта № 20-415-596002. В работе было использовано оборудование ЦКП «Исследования материалов и вещества» ПФИЦ УрО РАН.

Список литературы

Жердева А.И. и др. Клинико-эпидемиологическая характеристика ВИЧ-инфекции в Хабаровском крае: хронические вирусные гепатиты, туберкулез и другие оппортунистические заболевания // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2008. № 12. С. 87–94.

Саттарова Г.Ж. Исследования ВИЧ положительных сывороток на наличие маркеров гепатита В и С // Наука и новые технологии. 2014. № 3. С. 84–85.

Шмагель Н.Г., Шмагель К.В., Черешнев В.А. Клинические аспекты неэффективности высокоактивной антиретровирусной терапии // Инфекционные болезни. 2011. Т. 9, № 1. С. 5–10.

Autran B. et al. Restoration of the immune system with anti-retroviral therapy // Immunology Letters. 1999. Vol. 66. P. 207–211.

Borges A.H. et al. Predicting risk of cancer during HIV infection: the role of inflammatory and coagulation biomarkers // AIDS. 2013. Vol. 27. P. 1433–1441.

Brenchley J.M. et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection // Nature medicine. 2006. Vol. 12. P. 1365–1371.

Chen T.Y. et al. Meta-analysis: increased mortality associated with hepatitis C in HIV-infected persons is unrelated to HIV disease progression // Clinical Infectious Diseases. 2009. Vol. 49. P. 1605–1615.

Commins S.P., Borish L., Steinke J.W. Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines // Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2010. Vol. 125. P. S53–72.

de Oca Arjona M.M. et al. Bacterial translocation in HIV-infected patients with HCV cirrhosis: implication in hemodynamic alterations and mortality // Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome. 2011. Vol. 56. P. 420–427.

Duprez D.A. et al. Inflammation, coagulation and cardiovascular disease in HIV-infected individuals // PLoS One. 2012. Vol. 7. P. e44454.

Gutierrez F. et al. Patients' characteristics and clinical implications of suboptimal CD4 T-cell gains after 1 year of successful antiretroviral therapy // Current HIV Research. 2008. Vol. 6. P. 100–107.

Hammerich L., Tacke F. Interleukins in chronic liver disease: lessons learned from experimental mouse models // Clinical and Experimental Gastroenterology. 2014. Vol. 7. P. 297–306.

Martinez-Esparza M. et al. Inflammatory status in human hepatic cirrhosis // World Journal of Gastroenterology. 2015. Vol. 21. P. 11522–11541.

Netea M.G. et al. A guiding map for inflammation // Nature Immunology. 2017. Vol. 18. P. 826–831.

Raffetti E. et al. Systemic inflammation-based scores and mortality for all causes in HIV-infected patients: a MASTER cohort study // BMC Infectious Diseases. 2017. Vol. 17. P. 193.

Tenorio A.R. et al. Soluble markers of inflammation and coagulation but not T-cell activation predict non-AIDS-defining morbid events during sup-

pressive antiretroviral treatment // *The Journal of Infectious Diseases*. 2014. Vol. 210. P. 1248–1259.

Tien P.C. et al. Inflammation and mortality in HIV-infected adults: analysis of the FRAM study cohort // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2010. Vol. 55. P. 316–322.

References

Zherdeva A.I., Kuznetsova A.V., Gorovenko N.A., Dubotolkina E.V., N. N.L., Loifman E.A., Starukhina I.N., Tatarchenko I.A., Aksyutin V.A., Dyatlov V.P. [Clinical and epidemiological characteristics of HIV infection in the Khabarovsk Territory: chronic viral hepatitis, tuberculosis and other opportunistic diseases]. *Dal'nevostochnyj zhurnal infekcionnoj patologii*. N. 12 (2008): pp. 87-94. (In Russ.).

Sattarova G. Zh. [Studies of HIV-positive sera for the presence of markers of hepatitis B and C]. *Nauka i novye technologii*. N 3 (2014): pp. 84-85. (In Russ.).

Shmagel N.G., Shmagel K.V., Chereshev V.A. [Clinical aspects of the ineffectiveness of highly active antiretroviral therapy]. *Infekcionnye bolezni*. V. 9, N 1 (2011): pp. 5-10. (In Russ.).

Autran B., Carcelaint G., Li T.S., Gorochov G., Blanc C., Renaud M., Durali M., Mathez D., Calvez V., Leibowitch J., Katlama C., Debre P. Restoration of the immune system with anti-retroviral therapy. *Immunology Letters*. V. 66 (1999): pp. 207-211.

Borges A.H., Silverberg M.J., Wentworth D., Grulich A.E., Fatkenheuer G., Mitsuyasu R., Tambussi G., Sabin C.A., Neaton J.D., Lundgren J.D., Insight S., Esprit, Groups S.S. Predicting risk of cancer during HIV infection: the role of inflammatory and coagulation biomarkers. *AIDS*. V. 27 (2013): pp. 1433-1441.

Brenchley J.M., Price D.A., Schacker T.W., Asher T.E., Silvestri G., Rao S., Kazzaz Z., Bornstein E., Lambotte O., Altmann D., Bazar B.R., Rodriguez B., Teixeira-Johnson L., Landay A., Martin J.N., Hecht F.M., Picker L.J., Lederman M.M., Deeks S.G., Douek D.C. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nature medicine*. V. 12 (2006): pp. 1365-1371.

Chen T.Y., Ding E.L., Seage Iii G.R., Kim A.Y. Meta-analysis: increased mortality associated with hepatitis C in HIV-infected persons is unrelated to HIV disease progression. *Clinical Infectious Diseases*. V. 49 (2009): pp. 1605-1615.

Commins S.P., Borish L., Steinke J.W. Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. V. 125 (2010): pp. S53-72.

de Oca Arjona M.M., Marquez M., Soto M.J., Rodriguez-Ramos C., Terron A., Vergara A., Arizcorreta A., Fernandez-Gutierrez C., Giron-Gonzalez J.A. Bacterial translocation in HIV-infected patients with HCV cirrhosis: implication in hemodynamic alterations and mortality // *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. V. 56 (2011): pp. 420-427.

Duprez D.A., Neuhaus J., Kuller L.H., Tracy R., Belloso W., De Wit S., Drummond F., Lane H.C., Ledergerber B., Lundgren J., Nixon D., Paton N.I., Prineas R.J., Neaton J.D. Inflammation, coagulation and cardiovascular disease in HIV-infected individuals. *PLoS One*. V. 7 (2012): pp. e44454.

Gutierrez F., Padilla S., Masia M., Iribarren J.A., Moreno S., Viciano P., Hernandez-Quero J., Aleman R., Vidal F., Salavert M., Blanco J.R., Leal M., Dronda F., Perez Hoyos S., del Amo J., Co R.M. Patients' characteristics and clinical implications of suboptimal CD4 T-cell gains after 1 year of successful antiretroviral therapy. *Current HIV Research*. V. 6 (2008): pp. 100-107.

Hammerich L., Tacke F. Interleukins in chronic liver disease: lessons learned from experimental mouse models. *Clinical and Experimental Gastroenterology*. V. 7 (2014): pp. 297-306.

Martinez-Esparza M., Tristan-Manzano M., Ruiz-Alcaraz A.J., Garcia-Penarrubia P. Inflammatory status in human hepatic cirrhosis. *World Journal of Gastroenterology*. V. 21 (2015): pp. 11522-11541.

Netea M.G., Balkwill F., Chonchol M., Cominelli F., Donath M.Y., Giamarellos-Bourboulis E.J., Golenbock D., Gresnigt M.S., Heneka M.T., Hoffman H.M., Hotchkiss R., Joosten L.A.B., Kastner D.L., Korte M., Latz E., Libby P., Mandrup-Poulsen T., Mantovani A., Mills K.H.G., Nowak K.L., O'Neill L.A., Pickkers P., van der Poll T., Ridker P.M., Schalkwijk J., Schwartz D.A., Siegmund B., Steer C.J., Tilg H., van der Meer J.W.M., van de Veerdonk F.L., Dinarello C.A. A guiding map for inflammation. *Nature Immunology*. V. 18 (2017): pp. 826-831.

Raffetti E., Donato F., Casari S., Castelnuovo F., Sighinolfi L., Bandera A., Maggiolo F., Ladisa N., di Pietro M., Fornabaio C., Digiambenedetto S., Quiros-Roldan E. Systemic inflammation-based scores and mortality for all causes in HIV-infected patients: a MASTER cohort study. *BMC Infectious Diseases*. V. 17 (2017): p. 193.

Tenorio A.R., Zheng Y., Bosch R.J., Krishnan S., Rodriguez B., Hunt P.W., Plants J., Seth A., Wilson C.C., Deeks S.G., Lederman M.M., Landay A.L. Soluble markers of inflammation and coagulation but not T-cell activation predict non-AIDS-defining morbid events during suppressive

antiretroviral treatment. *The Journal of Infectious Diseases*. V. 210 (2014): pp. 1248-1259.
Tien P.C., Choi A.I., Zolopa A.R., Benson C., Tracy R., Scherzer R., Vacchetti P., Shlipak M., Grunfeld C., Inflammation and mortality in HIV-

infected adults: analysis of the FRAM study cohort. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. V. 55 (2010): pp. 316-322.

Поступила в редакцию 23.04.2021

Об авторах

Сайдакова Евгения Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН

ORCID: 0000-0002-4342-5362

доцент кафедры микробиологии и иммунологии ФГАОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
614081, Пермь, ул. Голева, 13;
radimira@list.ru; (342)2808334

Королевская Лариса Борисовна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН

ORCID: 0000-0001-9840-7578

614081, Пермь, ул. Голева, 13;
bioqueen@mail.ru; (342)2808334

Власова Виолетта Викторовна, лаборант
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН

ORCID: 0000-0002-1656-7277

614081, Пермь, ул. Голева, 13;
violetbaudelaire73@gmail.com; (342)2808334

About the authors

Saidakova Evgeniya Vladimirovna, candidate of biology, senior researcher
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS.

ORCID: 0000-0002-4342-5362

associate professor of the microbiology and immunology department
Perm State University.

13, Golev str., Perm, Russia, 614081;
radimira@list.ru; (342)2808334

Korolevskaya Larisa Borisovna, candidate of medicine, researcher
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS.

ORCID: 0000-0001-9840-7578

13, Golev str., Perm, Russia, 614081;
bioqueen@mail.ru; (342)2808334

Vlasova Violetta Viktorovna, laboratory assistant
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.

ORCID: 0000-0002-1656-7277

13, Golev str., Perm, Russia, 614081;
violetbaudelaire73@gmail.com; (342)2808334

Информация для цитирования:

Сайдакова Е.В., Королевская Л.Б., Власова В.В. Характер системного воспаления у ВИЧ/ВГС коинфицированных больных с дискордантным ответом на антиретровирусную терапию // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2021. Вып. 2. С. 141–146. DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-141-146.

Saidakova E.V., Korolevskaya L.B., Vlasova V.V. [Systemic inflammation in HIV/HCV coinfecting patients with discordant response to antiretroviral therapy]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 2 (2021): pp. 141-146. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2021-2-141-146.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ ДЛЯ ОПУБЛИКОВАНИЯ ИХ В ЖУРНАЛЕ «ВЕСТНИК ПЕРМСКОГО УНИВЕРСИТЕТА. СЕРИЯ БИОЛОГИЯ»

Редакционная коллегия научного журнала «Вестник Пермского университета. Серия Биология» просит авторов руководствоваться следующими правилами при подготовке рукописи к печати.

1. Оформление рукописи

1.1. Статья должна быть представлена в электронном виде (на диске или по электронной почте) и обязательно в виде распечатанной на принтере копии формата А4. Электронная версия записывается в формате Microsoft Word (версии **6.0, 7.0, 97, 2003**) или RTF. Размеры верхнего и нижнего полей – 2.6 см, правого и левого – 2.5 см. Расстояние до верхнего и нижнего колонтитулов – 1.25 см. Шрифт Times New Roman. Межстрочный интервал – одинарный. Абзацный отступ – 0.5 см. При оформлении статьи необходимо различать дефис (-) и тире (–). В качестве знака «минус» надо использовать тире, а в качестве разделителя в десятичных дробях – точку (а не запятую). В тексте статьи использовать кавычки «ёлочка». Переносы в словах делать только в тексте статьи, не допускаются переносы в названии статьи, заголовках всех уровней и названиях таблиц. Страницы должны иметь сквозную нумерацию.

1.2. Статьи без списка процитированной литературы не рассматриваются. Список цитированной литературы должен включать, как правило, не менее 10–15 публикаций. Коэффициент самоцитирования не должен превышать 30%.

1.3. Рукописи должны быть тщательно выверены и отредактированы автором (авторами). При этом материал должен быть структурирован, изложен ясно и последовательно.

1.4. Рукопись статьи должна быть подписана авторами.

1.5. Объём рукописи статьи (включая таблицы, рисунки, подписи к рисункам, библиографический список) не должен быть более 15 с., для информационных публикаций и рецензий – 1–5 с., кратких сообщений – 1–3 с. Суммарный объём таблиц и рисунков не должен превышать 1/3 объёма статьи.

1.6. Общий порядок расположения частей статьи и их оформление (смотри образец):

- Раздел журнала.

- УДК (размер шрифта 12, курсив).
- Инициалы, фамилия автора (авторов) (размер шрифта 12, полужирный).
- Места работы авторов (размер шрифта 10 пт).
- Название статьи (размер шрифта 14 полужирный, прописные).
- Аннотация (размер шрифта 10, объём 100–200 слов; она должна включать краткую информацию о целях, объекте и методах исследования, краткие результаты и заключение).
- Словосочетание «Ключевые слова» (размер шрифта 10, полужирный курсив), сами ключевые слова (до 8 слов, прямым светлым шрифтом) должны отделяться друг от друга точкой с запятой.
- Инициалы, фамилии, места работы авторов, название статьи, её аннотация и ключевые слова на английском языке должны полностью соответствовать шрифтам и объёму на русском языке.
- Текст статьи. В статьях экспериментального характера должны быть выделены разделы: **Введение** (можно без заголовка), **Материалы (или Объект) и методы исследований, Результаты и их обсуждение, Выводы (или Заключение)**. Набор текста статьи производится в две колонки одинаковой ширины, расстояние между колонками – 0.5 см. Основной текст набирается шрифтом Times New Roman Суг, размер – 10 пт. Латинские названия таксонов (до семейства включительно) должны быть набраны *курсивом* (кроме авторов таксонов). Литературные ссылки даются на фамилии авторов и располагаются в хронологическом порядке.
- Заголовки разделов набрать в левый край, размер шрифта 12, полужирн. строчные. Заголовки подразделов, если таковые есть, набираются в левый край (размер шрифта 10, жирн. курсив).
- Благодарности и финансирование (размер шрифта 10).
- Библиографический список (размер шрифта 10). Литературные источники в списке приводятся по алфавиту; сначала на кириллице, затем на латинице.
- Пристатейный список литературы на латинице (References), помещается сразу за Библиографическим списком, либо вместе с другой англоязычной частью, размещаемой за статьей. Не допуска-

ется смешивать русскоязычную и англоязычную часть в одной ссылке, точно также, как сокращать русскоязычный Библиографический список, перенося все англоязычные ссылки в References.

- Поступила в редакцию (дата ставится ответственным редактором выпуска, размер шрифта 10).

- Ф.И.О. автора или всех авторов (полностью, без сокращений), учёная степень, учёное звание и должность каждого автора, название учреждения, где выполнялась работа и его почтовый адрес, **ORCID**, адрес электронной почты, телефон (размер шрифта 10) (на русском и английском языках).

Оформление формул, рисунков и таблиц. Формулы набираются в редакторе Microsoft Equation с выравниванием по центру и пробелами сверху и снизу по 6 пт (номер формулы, если формул несколько, выравнивается по правому краю колонки). Размеры и начертание всех элементов формул должны быть одинаковыми с их представлением в тексте (основной размер 10 пт, индексы 7 пт, например, A_i). В тексте статьи и в математических уравнениях коэффициенты и аргументы функций набираются *наклонным* шрифтом, векторы – *наклонным жирным* шрифтом, цифры – обычным прямым шрифтом. Если уравнение не входит в одну строку, то его можно разбить на две или более строк. Химические символы и формулы набираются прямым шрифтом.

Таблицы и рисунки нумеруются в порядке упоминания их в тексте, каждая таблица и рисунок должны иметь свой заголовок. Заголовок таблицы обязателен и набирается полужирным строчным, размер шрифта 10 пт; текст таблицы набирается шрифтом размером 10 или 9 пт. Если в заголовке используются латинские названия таксонов, они набираются *курсивом*. Все столбцы должны иметь заголовки. Цифры в столбцах таблицы должны быть выровнены по точке десятичных дробей или по единице младшего разряда. Если таблица занимает по ширине две колонки, она должна быть расположена либо в начале, либо в конце страницы. Таблица может сопровождаться примечаниями. Таблицы в альбомном формате не допускаются.

Рисунки следует делать экономно, если они выполнены из отдельных элементов, то должны быть сгруппированы. Подписи к рисункам обязательны и набираются обычным прямым текстом размером шрифта 10 пт; обозначения и примечание к рисунку – размер шрифта 9 пт. Названия таксонов в подписях даются только по латыни, *курсивом*. Оригиналы рисунков должны представлять собой файлы форматов gif, jpg либо tif. Авторам следует учесть, что в журнале не предусмотрена цветная печать, поэтому рисунки, как правило, должны быть монохромными. За потерю качества при типографской печати цветных оригиналов редакция ответственности не несёт.

Следует избегать прямого импорта диаграмм в электронный оригинал статьи из редактора MS Excel и ему подобных путём копирования и вставки. Не допускается вставка со связью с оригиналом. Данные диаграммы должны быть доработаны автором в графическом редакторе.

При использовании для создания в тексте статьи схем и диаграмм встроенного графического редактора MS Word по окончании работы над изображением обязательно группируйте все его объекты в формате gif, jpg либо tif. Рамки вокруг изображений, в т. ч. диаграмм и легенд диаграмм, не допускаются. Рекомендуются обращать особое внимание на контрастность рисунков во избежание потерь информации при печати. В случае недостаточной контрастности исходных материалов она может быть повышена в графическом редакторе. Следует избегать большого числа цветов (полутонов) на изображении, а также выбора близких тонов заливки рядом расположенных элементов изображения.

Единственный в статье рисунок (*или* единственная таблица) должен иметь только заголовок и не обозначаться как рис. 1 (*или* табл. 1).

Если таблица не помещается на одну страницу, то на следующей странице - «Продолжение (*или* Окончание) табл. 1».

Сокращения. Разрешаются лишь общепринятые сокращения - названия мер, физических, химических и математических величин и терминов и т.п. Все сокращения должны быть расшифрованы, за исключением небольшого числа общеупотребительных. Названия учреждений при первом упоминании их в тексте даются полностью и сразу же в скобках приводится общепринятое сокращение; при повторных упоминаниях даётся сокращённое название учреждений. *Пример:* Пермский государственный национальный исследовательский университет (ПГНИУ), повторно – ПГНИУ, в Гербарии ПГНИУ и т.д.

Благодарности. В этой рубрике выражается признательность частным лицам, сотрудникам учреждений и фондам, оказавшим содействие в проведении исследований и подготовке статьи, а также указываются источники финансирования научных исследований, если таковые имеются.

Оформление списка литературы. Убедительно просим при оформлении статей руководствоваться новыми правилами. Список литературы должен быть оформлен строго в соответствии с ГОСТ Р 7.0.5-2008 «Библиографическая ссылка».

Для связи библиографических ссылок с текстом статьи используют идентифицирующие сведения: фамилия автора (авторов) или название публикации, год издания, при необходимости страницу; отсылки в тексте заключают в квадратные скобки [Israeli, Shaffer, Lighthart, 1993, с. 142]. Названия периодических изданий **не сокращаются**. За правильность и полноту предоставления библиографических данных ответственность несёт автор.

Оформление References. Предлагается следующий порядок описания литературного источника:

- авторы (транслитерация);
- [перевод заглавия статьи на английский язык в квадратных скобках];
- название русскоязычного источника (транслитерация);
- [перевод названия источника на английский язык – парафраз (для журналов можно не делать)],
- выходные данные с обозначениями на английском языке;
- указание на язык статьи (In Russ.) после описания статьи.

Например:

Vyzov A.L., Utina I.A. [The centrifugal effects on amacrine cells in the retina of frog]. *Neirofiziologiya*. N 3 (1971): pp. 293-300. (In Russ.).

Это наиболее приемлемая схема, т.к. в ней даётся информация о содержании статьи и полные данные об источнике. Перевод заглавия приведён в квадратных скобках, имея в виду, что английское заглавие не является основным в этой статье.

Подробное руководство по оформлению References помещено на странице (<http://www.psu.ru/nauchnye-zhurnaly/metodicheskie-materialy/oformlenie-spiska-literatury-v-latinitse-references>).

Внимание! Единственным критерием для публикации в журнале «Вестник Пермского университета. Серия Биология» является научный уровень работы, выявляемый при её рецензировании. Журнал не взимает плату за публикацию статей с аспирантов и соискателей учёных степеней.

2. Представление и редакционная подготовка рукописи

Рукопись может быть представлена лично, приложена на почтовый адрес редакции или по электронной почте (vestnik_psu_bio@mail.ru). Рукопись регистрируется при получении ответственным секретарем журнала. К рукописи прикладывается **Лицензионный договор**.

Автором(ами) подписывается договор о согласии на использование статьи в открытой печати. Авторы гарантируют, что статья является оригинальным произведением, ранее не публиковалась,

и они обладают исключительными авторскими правами на неё. Форма Лицензионного договора находится на сайте журнала (<http://www.psu.ru/nauchnye-zhurnaly/series-biology>).

Статья аспиранта (без соавторов) должна иметь отзыв научного руководителя.

Вместе со статьей подается ее электронный вариант, названный по фамилии автора(ов), например, Иванов, Петров, Сидоров.doc. Для литературного и технического редактирования представляется печатный вариант статьи со всеми необходимыми элементами, с текстом, размещенным в одну колонку, отпечатанный 12 размером шрифта с межстрочным интервалом 1.5.

Рукопись должна быть тщательно выверена, отредактирована и подписана автором(ами).

После получения редакцией статьи, она направляется на рецензирование. При наличии замечаний к рукописи она отсылается автору (авторам) на доработку. Доработанный вариант статьи автор должен вернуть в редакцию вместе с первоначальным экземпляром не позднее чем через неделю после получения замечаний. В случае невозвращения рукописи автором в редакцию по истечении этого срока или необходимости более двух доработок, первоначальная дата её регистрации аннулируется. Датой поступления считается день получения окончательного варианта статьи.

Рукописи рассматриваются в порядке их поступления в течение 1–6 месяцев в зависимости от сложности ситуации и объема работы.

В редакционно-издательский отдел рукописи статей сдает ответственный редактор. После редакционной правки рукопись при необходимости возвращается автору для согласования (срок – не более 2 дней). После исправления всех замечаний автор подписывает статью к печати.

Для правильного оформления статьи используйте электронную форму настоящих правил последнего выпуска, выложенного на сайте журнала.

Редакционная коллегия

БОТАНИКА

УДК 581.9

И. И. Иванов^a, П. П. Петров^b, С. С. Сидоров^c

^a Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

^b Московский государственный университет, Москва, Россия

^c Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

НАЗВАНИЕ СТАТЬИ

В аннотации (реферате) отражается основное содержание статьи. Аннотация должна содержать 100–200 слов. Например: определён показатель жизнеспособности лиофилизированных культур *Rhodococcus* spp. после длительного хранения, достаточный для восстановления клеточной популяции. Консервацию алканотрофных родококков рекомендовано производить в условиях предварительного их культивирования на питательных средах. Ключевых слов или словосочетаний должно быть не более 8; они должны отделяться друг от друга точкой с запятой.

Ключевые слова: оформление; статья; правила.

I. I. Ivanov^a, P. P. Petrov^b, S. S. Sidorov^c

^a Perm State University, Perm, Russian Federation

^b Moscow State University, Moscow, Russian Federation

^c Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

THE TITLE OF THE ARTICLE

Viability level necessary to recover cell populations upon long-term storage was measured. It is recommended to preserve alkanotrophic rhodococci pre-cultivated on nutrient hydrocarbon-containing media. The duration of rhodococci storage could be increased using protectants. The most effective lyoprotectants are shown to be a sucrose-gelatine agar or gelatine agar supplemented with *Rhodococcus*-biosurfactants.

Key words: actinobacteria; *Rhodococcus*; biosurfactants.

Введение

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст [Автор, Автор, Автор, 2012; Автор, 2014].

Текст. Текст. Текст [Автор, Автор, Автор, 1992; Автор, 2001]. Текст. Текст.

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Материал и методы исследования

Материал

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Методы исследования

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст [Автор, Автор, Автор, 1999; Author, 2012].

Текст. Текст. Текст [Author, Author, 1992; Автор, 2000]. Текст. Текст.

Результаты и их обсуждение

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст (рис. 1). Текст. Текст. Текст.

Текст. Текст. Текст (рис. 2, табл. 1). Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст (формула 1)

$$a = \text{th } x + \int_a^b f(x)dx + \text{ch } x - 25 \sum_{i=1}^N k_i A_i . \quad (1)$$

где текст, текст, текст.

Текст. Текст. Текст. Текст (табл. 2). Текст. Текст. Текст. Текст.

Текст. Текст. Текст. Текст (табл. 2). Текст. Текст. Текст. Текст.

Текст. Текст. Текст [Author, 2010]. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

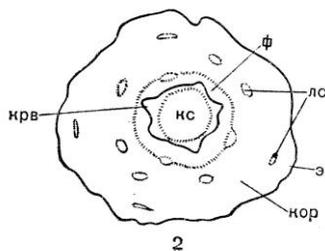


Рис. 1. Название рисунка:

кор – название, крв – название, кс – название, лс – название, ф – название, э – название

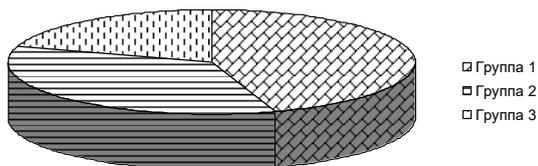


Рис. 2. Название рисунка:

1 – Группа 1 – название, 2 – Группа 2 – название, 3 – Группа 3 – название

Таблица 1

Пример оформления таблицы и заголовка к ней для объекта X

Область оценки	Дисперсия сигнала (D)	v (МГц)	Среднее
А	79	8.91*	5.6
Б	170	13.0	208.0
В	165	12.8	124.05

*Текст примечания.

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Об авторах

Иванов Иван Иванович, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой гистологии ФГБОУВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
ORCID: XXXX-XXXX-XXXX-XXXX
 614990, Пермь, ул. Букирева, 15;
 ivanovii@mail.ru; (342)2396233

Петров Петр Петрович, кандидат биологических наук, доцент кафедры органической химии ФГБОУВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»
ORCID: XXXX-XXXX-XXXX-XXXX
 119991, Москва, Ленинские горы, 123;
 PPetrov@yandex.ru; (095)3764812

Сидоров Семен Семенович, инженер лаборатории адаптации микроорганизмов ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН
ORCID: XXXX-XXXX-XXXX-XXXX
 614081, Пермь, ул. Голева, 13; Sid709@iegm.ru;
 (342)2876328

Выводы

Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Благодарности. Финансирование. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст. Текст.

Библиографический список

Автор И.О. Заголовок // Источник. Год публикации. Том, номер. Страницы.
Автор И.О., Автор И.О. Заголовок // Источник. Год публикации. Том, номер. Страницы.
 Заголовок / Автор И.О. и др. // Источник. Место публикации, год публикации. Страницы.
Author N., Author N. Title // Place of publication. Year Published. Volume Number, Issue Number. Page Numbers.
Author N. Title // Place of publication, Year Published. Page Numbers.
Title // Place of publication, Year Published. Page Numbers.

References

Last Name, First Name. *Title of Book*. Publisher City: Publisher Name, Year Published. Page Numbers.
 Last Name, First Name. [Title] *Journal Name* Volume Number, Issue Number (Year Published): Page Numbers. (In Russ.).
 Last Name, First Name. [Title] *Journal Name* Volume Number, Issue Number (Year Published): Page Numbers.
 Last Name, First Name. *Title of Book*. Publisher City: Publisher Name, Year Published. Page Numbers. (In Russ.).

Поступила в редакцию 00.00.202_

About the authors

Ivanov Ivan Ivanovich, doctor of biology, professor, head of the Department of histology Perm State University
ORCID: XXXX-XXXX-XXXX-XXXX
 15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990;
 ivanovii@mail.ru; (342)2396233

Petrov Petr Petrovich, candidate of biology, associate professor of the Department of organic chemistry Lomonosov Moscow State University
ORCID: XXXX-XXXX-XXXX-XXXX
 123, Leninskije gory str., Moscow, Russia, 119991;
 PPetrov@yandex.ru; (095)3764812

Sidorov Semyon Semyonovich, engineer of the laboratory of microbial adaptation Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS
ORCID: XXXX-XXXX-XXXX-XXXX
 13, Golev str., Perm, Russia, 614081;
 Sid709@iegm.ru; (342)2876328

Вестник Пермского университета
БИОЛОГИЯ
2021. Выпуск 2

Bulletin of Perm University
BIOLOGY
2021. Issue 2

Научное издание

Редактор *Л. Л. Савенкова*

Корректор *Л. Л. Соболева*

Компьютерная верстка *С. А. Овеснова*

Подписано в печать 25.06.2021. Выход в свет 14.08.2021. Формат 60×84¹/₈.
Усл. печ. л. 8,0. Тираж 500 экз. Заказ № 203/2021.

Издательский центр Пермского государственного национального исследовательского
университета
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Отпечатано с готового оригинал-макета в типографии издательства «Книжный формат»
614000, г. Пермь, ул. Пушкина, 80

Бесплатно.

Подписной индекс журнала в каталоге ОАО «Пресса России. Том 1. Газеты и журналы» 41000