УДК 631.466.1:632.122:631.87

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ СООБЩЕСТВ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ В ПОЧВАХ ПРИ ХИМИЧЕСКОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ И ВНЕСЕНИИ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ*

© 2016 г. В.А. Терехова^{1,2}, А.Е. Иванова², М.И. Акулова², М.А. Пукальчик², Е.В. Федосеева², О.С. Якименко², В.К. Шитиков³

E-mail: vterekhova@gmail.com

Поступила в редакцию 02.06.2015 г.

Проведена экспериментальная проверка трансформации структуры грибных сообществ в почве под влиянием меди и последующего внесения гуминового препарата (ГП) флексом. Установлено, что при разных дозах поллютанта (246 и 538 мг Си/кг сухой почвы) и ремедианта флексома (0.1 и 1.0 г/кг сухой почвы) проявились существенные различия в видовом составе микромицетов, что свидетельствовало о биоиндикационной значимости структурных параметров грибных сообществ. Установлено, что ГП флексом в концентрации 1 г/кг почвы способен ослабить действие поллютанта при высокой дозе (528 мг Си/кг почвы), что выразилось в сходстве структуры микобиоты в этом варианте с контролем.

Ключевые слова: структура почвенных сообществ, микроскопические грибы, химическое загрязнение, гуминовые вещества.

ВВЕДЕНИЕ

Разнообразные продукты "зеленой химии" – коммерческие гуматы разного генезиса, широко рекомендуются для восстановления нарушенных биоценозов и экологических функций почв [1, 2]. В связи с актуальностью проблемы эффективности этих продуктов и их сертификации в литературе обсуждаются способы оценки их биологической активности, воздействие на представителей разных групп биоты [3, 4].

Эффективность и биологическую безопасность гуминовых препаратов ($\Gamma\Pi$) изучают с привлечением различных систем биотических показателей: с помощью растений, простейших, червей, ракообразных, бактерий и грибов [5–7].

Грибы как неотъемлемый компонент наземных и водных биоценозов контролируют широкий спектр биосферных функций [8]. Они, как правило, достаточно устойчивы к действию токсических веществ, многие виды обитают в экстремальных и сильно нарушенных средах. Ответные реакции грибов на изменения внешних условий проявляются на всех уровнях организации живой материи – клеточном, организ-

менном, популяционном и на уровне сообществ. Несмотря на высокую степень изменчивости "откликов", микоиндикационные параметры при определенных видах техногенных воздействий в высокой степени информативны [9]. В этой роли чаще всего выступают структурные показатели сообществ — таксономический состав, доля резистентных меланизированных форм, индексы видового разнообразия грибов.

Для разработки информативной системы биотических показателей и оценки экологического состояния почвенных ценозов, особенно необходимой в агроэкосистемах, и совершенствования экологического нормирования воздействий, включая ремедиационные процессы с помощью гуминовых препаратов, важно иметь обоснованное представление о том, каковы изменения структуры микобиоты как при воздействии поллютантов, так и при внесении в почвы ремедиантов. Для описания степени трансформации природных сообществ живых организмов привлекаются различные модели и методы математической статистики.

Цель работы — исследование характеристики изменений структуры сообществ почвенных микромицетов под действием экзогенных гуминовых веществ (препарата флексом) в загрязненных медью почвах.

¹ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова 119071 Москва, Ленинский просп., 33, Россия

² Московский государственный университет им М.В. Ломоносова 119992 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12, Россия

³ Институт экологии Волжского бассейна 445003 Тольятти, Самарская обл., ул. Комзина, 10, Россия

^{*} Работа проведена при поддержке РФФИ (14-04-31296 мол-а) и МНТЦ (KR-2092).

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыт проводили на образцах искусственной стандартной почвы, так называемого модельного почвогрунта (МПГ), приготовленного по международному стандарту ISO 11268-2. Состав МПГ: каолин — 20%, переходный торф — 10%, строительный песок с размером частиц 0.2—0.4 мм — 70%. Модельный почвогрунт приготовлен промышленным способом на специализированном оборудовании ООО "Биогрунт", как описано ранее [10].

Почвогрунт такого состава применяют для разработки предельно допустимых уровней воздействия пестицидов, а также для анализа или сравнения почв под влиянием различных видов механической обработки [11]. Рецептуру МПГ разрабатывали с учетом особенностей технологии смешивания исходных компонентов с поправкой на потери при сепарации. Для удобства технического выполнения делали пересчет массовых долей компонентов в объемные с учетом плотности. МПГ имеет супесчаный гранулометрический состав по Качинскому (20% физической глины), пепельно-серый цвет, на вид — однородная рассыпчатая масса с комками органического вещества до 5 мм, насыпная плотность 1.1 г/см³.

МПГ по основным свойствам значительно однороднее любой природной почвенной разности, что позволяет решить ряд важных проблем, возникающих обычно при проведении агрохимического опыта: минимизировать влияние неоднородности почвенного покрова, значительно повысить репрезентативность получаемых результатов, минимизировать зависимость результатов от истории участка. Некоторые свойства МПГ приведены в табл. 1.

Почвенные образцы массой 400 г выравнивали по влажности (60% ПВ) и выдерживали в пластиковых сосудах при комнатной температуре в течение 5 сут для достижения равновесия между всеми компонентами смеси. После этого через определенные промежутки времени к опытным образцам добавляли поллютант (медь) и/или ГП.

В опытные образцы МПГ вносили соль меди $CuSO_4 \times 5H_2O$ в виде водного раствора (дозы внесения 246 и 538 мг Cu/кг сухой почвы, варианты Cu1, Cu2 соответственно), тщательно перемешивали и выдерживали 14 сут при температуре 25 °C.

Через 2 нед в образцы почв вносили ГП флексом (F) в виде водного раствора в дозах 0.1 и 1.0 г/кг сухой почвы, варианты F0.1, F1.0 соответственно. Образцы выдерживали еще 4 нед, после чего проводили отбор проб для почвенных микологических анализов.

Таблица 1 . Некоторые свойства МПГ

Показатель	НД на методы испытаний	Единицы измерения	Показатель (на абсолютно сухое вещество)	
Влажность	ГОСТ 26713-85	%	15.7 ± 0.9	
pH_{KCI}	ГОСТ 26484-85	ед. рН	4.95 ± 0.06	
pH_{H_2O}	ГОСТ 26423-85	ед. рН	5.61 ± 0.06	
Органи- ческое вещество	ГОСТ 26213-91	%	10.9 ± 7.4	
P ₂ O _{5подв}	ГОСТ 26207-91	мг/кг	133 ± 38	
K ₂ O _{подв}	ГОСТ 26207-91	мг/кг	37.6 ± 7.9	

Производитель (ООО "Флексом") дает следующую информацию о составе препарата: органическое вещество (OB) — 5.7—6.4% (57—64 г/л), калиевые соли гуминовых кислот — не менее 80% OB; фульвокислоты — не более 20% OB, аминокислоты — до 1.2 г/л, углеводы — до 0.2 г/л, низкомолекулярные органические кислоты — до 2.5 г/л, азот — до 3.0 г/л, фосфор — до 0.5 г/л, калий — до 1.2 г/л, рН — не более 9.0. В состав препарата входят биологически активные формы микроэлементов: железо, медь, цинк, марганец, бор, молиблен и др.

Пробы из серийного разведения (1:100) исследованных образцов анализировали методом глубинного посева на стандартной среде Чапека в термостате при 24°C в течение 10–14 сут [12].

Идентификацию чистых культур выделенных видов микромицетов осуществляли на основании культурально-морфологических признаков с использованием современных определителей для соответствующих групп и родов. Учитывали численность колониеобразующих единиц (КОЕ) каждого вида. Для характеристики структуры грибных сообществ использовали следующие показатели: частоту встречаемости вида (%), которая рассчитывается как отношение числа образцов (повторностей), где вид обнаружен, к общему числу исследованных образцов (повторностей); относительное обилие вида, которое рассчитывается как средняя доля (%) колоний данного вида от общей численности грибных колоний в каждом образце (повторности).

Статистической обработке подвергали данные из 9 повторностей каждого опытного и контрольного варианта (повторность навесок в каждом варианте была трехкратной, как и повторность чашек Петри для каждой навески). Критический уровень значимости был равен $p \le 0.05$.

Таксономическое разнообразие микромицетов оценивали по индексу разнообразия Шеннона [12]. Для выявления сходства/различия образцов между собой рассчитывали симметричную матрицу дистанций D, состоящую из коэффициентов расстояния Брея-Кёртиса. Взаимную упорядоченность сообществ культивируемых микромицетов в системе относительных шкал графически представляли с помощью кластеризации k-средних и неметрического многомерного шкалирования [13]. Для оценки различий в показателях видового разнообразия была построена модель однофакторного дисперсионного анализа. На ее основе выполнены множественные парные сравнения как контрольной группы со всеми опытными образцами, так и реализована схема полного перебора всех вариантов на основе контрастов Тьюки. Методика получения бутстреп-оценок *р*-величин для *t*-критерия при сравнении индекса Шеннона в нескольких группах описана в работе [14]. Статистические расчеты произведены с использованием статистической компьютерной программы R (www.r-project.org/) [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При внесении меди и ГП в образцы искусственных почв структура сообщества микромицетов претерпела значительные изменения. Изменение видового состава сообществ и частота встречаемости выделенных видов грибов показаны в табл. 2.

Число выявленных видов микромицетов при обработке почвенных образцов как медью, так и гуматами на фоне загрязнения медью, менялось незначительно. Однако во всех опытных вариантах общее число видов было меньше, чем в контроле (образец МПГ без обработки).

Численность культивируемых микромицетов, выраженная в колониеобразующих единицах (КОЕ/г), практически при всех сочетаниях добавок существенно возрастала, достигая максимума в вариантах Сu2 + F0.1 и Cu2 + F1.0. Объяснение этому, возможно, служит известная стимуляция развития микроорганизмов относительно невысокими дозами тяжелых металлов и подпитка роста грибов органическими компонентами, входящими в состав добавок к действующему веществу препарата $\Gamma\Pi$ флексом.

Результаты статистической оценки трансформации комплексов почвенных микромицетов под влиянием меди и при ремедиации ГП представлены в табл. 3 и на рис. 1, 2. Графическое представление взаимной упорядоченности сообществ культивируемых микромицетов, выполненное

в системе относительных шкал (компонент) с использованием матрицы экологических расстояний, дано на рис. 1. Были рассчитаны коэффициенты расстояния Брея—Кёртиса между вариантами с учетом численности колониеобразующих единиц (КОЕ) и сформирована симметричная матрица дистанций D (табл. 3). Самыми близкими, согласно этому методу, оказались варианты Cu2 и Cu4 + F1.

Первый вариант кластеризации, представленный на рис. 1, получили методом k-средних с подстройкой классификационных отношений на основе нечетких множеств Заде—Бездека [11].

Исследованные варианты по видовому сходству грибных сообществ образовали 2 группы. В одну группу объединили сходные с контролем по частоте встречаемости видов грибов варианты Cu1 и Cu2 + F1.0, согласно приведенным расчетам и построениям. Тем не менее, эта пара образцов имела значимые отличия от контроля, что показано на рис. 2. На дендрограмме отражено сходство видового состава выявленных сообществ микромицетов в исследованных вариантах, оцененное на основании кластерного анализа. При расчете эвклидовых расстояний использовали метод объединения Варда.

Другой вариант проецирования данных в пространстве двух координат получен с использованием неметрического многомерного шкалирования (рис. 3). Метод использует произвольную матрицу дистанций D и проецирует ее на плоскость таким образом, чтобы приближенно

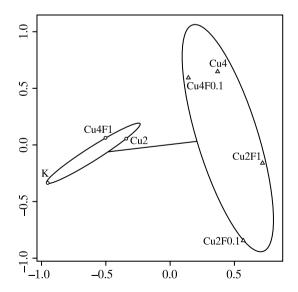


Рис. 1. Группировка сообществ культивируемых микромицетов на основе частоты встречаемости видов в исследованных образцах МПГ с использованием алгоритма нечеткой классификации (по осям абсцисс и ординат – 1-я и 2-я нечеткие компоненты).

Таблица 2. Видовой состав и структура сообществ культивируемых грибов в исследованных образцах МПГ

	Варианты								
Виды микромицетов	Шифр видов	контроль	Cu1	Cu1 + F0.1	Cu1 + F1.0	Cu2	Cu2 + F0.1	Cu2 + F1.0	
Acremonium sp.	AcrSp	33/17.8					11/0.4		
Aspergillus fumigatus Fresen.	AspFu	11/3.7						33/12.6	
Aspergillus niger Tiegh.	AspNi			33/0.9	22/1.1	33/27.0			
Aspergillus terreus Thom	AspTe		11/0.9						
Aspergillus ustus (Bainier) Thom & Church	AspUs	11/3.7			33/25.6	22/0.5	56/6.0		
Chaetomium globosum Kunze	ChaGl		22/10.7			11/4.9			
Clostachys rosea (Link) Schroers, Samuels, Seifert & W. Gams	CloRo	11/2.2	33/5.6	100/34.5	67/13.6	22/1.4	33/22.9	22/4.5	
Fusarium oxysporum Schlecht.	FusOx			22/7.1	44/13.6				
Geotrichum candidum Link	GeoCa		11/4.8						
Haematonectria haematococca (Berk. & Broome) Samuels & Rossman	НаеНа		33/4.5	11/4.2	44/3.2	89/19.1	78/44.0	44/15.9	
Lichtheimia ramosa (Zopf) Vuill.	LicRa	44/12.4	22/3.8	44/4.0	44/2.8		11/0.3	33/9.6	
Mortierella alpina Peyronel	MorAl		11/1.0	78/8.1	89/8.7	44/7.5	33/2.0		
Paraconiothyrium sporulosum (W. Gams & Domsch) Verkley	ParSp		33/6.9						
Penicillium aurantiogriseum Dierckx	PenAu		22/3.6	56/3.0	33/6.3			22/7.1	
Penicillium citrinum Thom	PenCi		67/13.6						
Penicillium crustosum Thom	PenCr	11/2.8	33/14.2		78/20.1	44/9.3	22/1.2		
Penicillium griseofulvum Dierckx	PenGr	11/2.8		44/29.8			11/2.8		
Penicillium oxalicum Currie & Thom	PenOx					11//0.2			
Pseudogymnoascus pannorum (Link) Minnis & D.L. Lindner	PsePa	56/33.8		11/3.3					
Rhizopus arrhizus A. Fisch.	RhiAr	11/2.8	67/15.8	67/3.8	67/2.6	100/19.6	67/9.0	56/15.0	
Sarocladium kiliense (Grütz) Summerb.	SarKi	44/10.9	33/13.6					22/25.0	
Trichoderma asperellum Samuels, Lieckf. & Nirenberg	TriAs	11/5.6							
Trichoderma harzianum Rifaiu	TriHa		11/1.1	44/1.3		56/7.1	11/0.4		
Trichoderma koningii Oudem.	TriKo	11/1.6				22/3.4		33/10.3	
Trichoderma virens (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) Arx	TriVi				22/2.3		67/11.1		
Всего видов		12	8	11	11	11	11	8	
Численность КОЕ, тыс.КОЕ/г		5.0 ± 1.7	11.0 ± 3.5	45 ± 39	32 ± 14	20 ± 14	19.9 ± 6.0	5.6 ± 3.2	

Примечание. Над чертой – частота встречаемости вида, %; под чертой – средняя величина обилия вида, %.

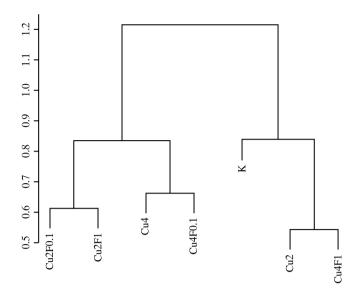


Рис. 2. Дендрограмма сходства выявленных сообществ микромицетов по частоте встречаемости культивируемых видов микромицетов в образцах МПГ.

сохранить расстояния между объектами, которые имели место в многомерном пространстве. С помощью этого вида статистической обработки удалось получить наглядную картину распределения выявленных видов в пространстве, построенную уже на основе численности колоний определенных видов, выделенных при посеве. Полученные данные позволили характеризовать почвенные образцы и их соотношение в многомерном пространстве по доминирующим формам грибов.

На представленной диаграмме ("ординационном биплоте", рис. 3) совмещены геометрические проекции образцов МПГ и связанных с этими образцами видов культивируемых грибов. Положение вида на ординационной плоскости показывает экологический оптимум (точнее, центр тяжести распределения численности) этого вида относительно точек исследованных образцов.

Несмотря на принципиально разные подходы к проецированию (рис. 1, 3), отмечены сходные тенденции в двух вариантах статистической обработки данных о динамике структуры сообществ в почвенных образцах, обработанных последовательно медью и гуминовым препаратом на фоне меди.

Таким образом, загрязнение почвы медью приводило к количественным и качественным нарушениям естественной структуры сообществ культивируемых грибов. Внесение гуминового препарата флексом, вероятно, вызывало связывание катионов меди в прочный комплекс, снижая таким образом их негативное воздействие на живые клетки. Такое эффективное связывание меди гуминовыми кислотами было продемонстрировано с помощью моделирования комплексообразования в морской среде с применением

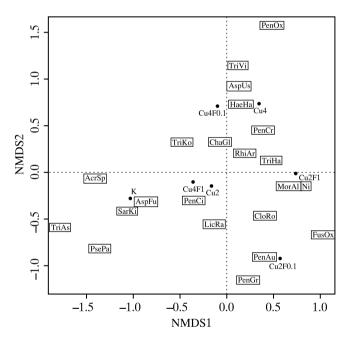


Рис. 3. Распределение видов микромицетов по численности КОЕ в образцах МПГ с использованием алгоритма неметрического многомерного шкалирования.

Таблица 3. Матрица коэффициентов расстояния Брея-Кёртиса

Варианты	Варианты					
	Контроль	Cu1	Cu1 + F0.1	Cu1 + F1.0	Cu2	Cu2 + F0.1
Cu1	0.831					
Cu1 + F0.1	0.900	0.862				
Cu1 + F1.0	0.936	0.795	0.615			
Cu2	0.954	0.658	0.804	0.773		
Cu2 + F0.1	0.930	0.793	0.714	0.660	0.665	
Cu2 + F1.0	0.699	0.544	0.886	0.847	0.794	0.840

инверсионной вольтамперометрии (SWASV) при воздействии на представителей другого царства живых организмов. Это приводило к снижению токсичности меди. Об этом судили, в частности, по восстановлению нарушенных свободными катионами меди процессов эмбриогенеза и роста личинок морского ежа при добавлении в морскую воду гуминовых кислот [16]. На эффекте комплексообразования катионов и гуминовых кислот основываются многие разработки для обезвреживания и утилизации токсичных отходов [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ трансформации микобиоты, проведенный в эксперименте с моделированием ремедиации гуминовым препаратом флексом почвенных образцов, загрязненных медью, выявил существенные различия в видовой структуре сообществ грибов, развивавшихся в присутствии разных доз поллютанта и при внесении ремедианта.

Анализ упорядоченности относительно друг друга образцов по сходству структуры сообществ культивируемых микромицетов в системе относительных шкал показал, что варианты по видовому сходству образовали 3 группы: первая – контроль, вторая — варианты Cu1 и Cu2 + F1.0, третья – варианты Cu1 + F0.1, Cu1 + F1.0, Cu2 и Cu2 + F0.1. На основании проведенной статистической обработки данных об изменении видовой структуры грибных сообществ можно признать, что загрязненный высокой дозой меди вариант Cu2 + F1.0 в большой степени приближался по видовому составу к варианту Cu1 и даже к контролю. При этом в нем присутствовал ряд видов, не выявленных в контроле, но выявленных во всех вариантах с поллютантом. Об этом свидетельствовали результаты кластерного анализа данных присутствия видов микромицетов в исследованных вариантах.

Скорее всего, гуминовый препарат флексом в концентрации 1.0 г/кг почвы при дозе меди 528 мг/кг был способен существенно ослабить действие поллютанта. При меньшей концентрации меди (264 мг/кг) обработка гуминовым препаратом (0.1 и 1.0 г/л) заметно не влияла на структуру микоценоза микромицетов, которую можно было бы характеризовать как положительное воздействие, приближающее эти варианты к контролю.

Полученные результаты свидетельствовали о высокой биоиндикационной значимости структурных параметров грибных сообществ как при воздействии тяжелых металлов, так и агентов ремедиации – промышленных гуминовых препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. *Лиштван И.И., Абрамец А.М.* Гуминовые препараты и охрана окружающей среды (К использованию в качестве удобрений) // Гуминовые вещества в биосфере / Под ред. Орлова Д.С. М.: Наука, 1993. С. 126–139.
- 2. Куликова Н.А. Защитное действие гуминовых веществ по отношению к растениям в водной и почвенной средах в условиях абиотических стрессов: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М.: Изд-во МГУ, 2008, 48 с.
- 3. Якименко О.С., Терехова В.А. Гуминовые препараты и оценка их биологической активности для целей сертификации // Почвоведение. 2011. № 11. С. 1334–1343.
- 4. *Воронина Л.П., Якименко О.С., Терехова В.А.* Оценка биологической активности промышленных гуминовых препаратов // Агрохимия. 2012. № 6. С. 45–52.
- 5. *Tsiridis V., Petala M., Samaras P., Hadjispyrou S., Sakellaropoulos G., Kungolos A.* Interactive toxic effects of heavy metals and humic acids on *Vibrio fischeri //* Ecotoxicol. Environ. Safety. 2006. № 63. P. 158–167.
- 6. Федосеева Е.В., Пацаева С.В., Терехова В.А. Влияние гумата калия на некоторые физиологические характеристики микроскопических грибов разной пигментации // Микол. и фитопатол. 2009. Т. 43. № 3. С. 243–250.
- 7. Тихонов В.В., Якушев А.В., Завгородняя Ю.А., Бызов Б.А., Демин В.В. Действие гуминовых кислот на рост бактерий // Почвоведение. 2010. № 3. С. 333–341.
- 8. Odum Yu. Ecology. M.: World, 1986. V. 1. 328 p.
- 9. *Терехова В.А.* Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. М.: Наука, 2007. 215 с.
- 10. Терехова В.А., Домашнев Д.Б., Каниськин М.А., Степачев А.В. Экотоксикологическая оценка повышенного содержания фосфора в почвогрунте по тест-реакциям растений на разных стадиях развития // Пробл. агрохимии и экологии. 2009. № 3. С. 21–26.
- 11. Фомин Г.С., Фомин А.Г. Почва. Контроль качества и экологической безопасности по международным стандартам / Под ред. Воронина Г.П. М.: Протектор, 2001. 305 с.
- 12. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Звягинцева Д.Г. М.: Изд-во МГУ, 1991. 303 с.
- 13. Дэйвисон М. Многомерное шкалирование. Методы наглядного представления данных. М.: Финансы и статистика, 1988. 348 с.
- 14. Шитиков В.К., Розенберг Г.С. Рандомизация и бутстреп: статистический анализ в биологии и экологии с использованием R. Тольятти: Kaccaндра, 2014. 314 с. URL: http://www.ievbras.ru/ecostat/Kiril

- 15. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Austria: Vienna, 2013. URL: http://www.R-project.org/, дата последнего обращения 24.04.2015.
- 16. Lorenzo J.I., Nieto O., Beiras R. The effect of humic acids on speciation and toxicity of copper to Paracen-
- trotus lividus larvae in seawater // Aquatic Toxicol. 2002. V. 58. P. 27–41.
- 17. *Шульгин А.А.* Нейтрализация токсичных отходов обогащения медных руд с использованием гуминовых кислот бурого угля // Горн. информ.-аналит. бюлл. (научн.-техн. журн.). 2008. № 6. С. 134–141.

The Changes in the Structure of the Communities of Microscopic Fungi in Soils with Jemieson Pollution and the Introduction of Humic Substances

V.A. Terekhova^{1,2}, A.E. Ivanova², M.I. Akulova², M.A. Pukalchik², E.V. Fedoseeva², O.S. Yakimenko², V.K. Shitikov³

E-mail: vterekhova@gmail.com

Experimental study of fungal communities' structure in soil samples under the influence of copper with following application of humic product Flexom is compiled. Using statistical methods in was established that at different rates of pollutant (264 and 528 mg Cu/kg soil) and Flexom as remediating agent certain significant differences in micromycetes species composition are revealed, which proves the bioindicative importance of structural parameters of fungal communities. At high rate of pollutant (528 mg/kg) Flexom at concentration 1 g/kg was able to eliminate the effect of pollutant, which revealed in increased similarity in fungal communities in treated samples with control.

Key words: structure of communities of microscopic fungi, soils, jemieson pollution, introduction of gumic substances.

¹ Institute of Ecology and Evolution Russian Academy of Sciences, Leninsky prosp. 33, Moscow 119071, Russia

² Moscow State University, Lenininskiye gory 1, bd. 12, Moscow 119992, Russia

³ Institute of Ecology of Volga Basin, ul. Komzina 10, Samara region, Togliatti 445003, Russia