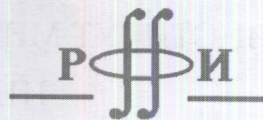


СПОНСОРЫ КОНФЕРЕНЦИИ:



ФЕДЕРАЛЬНОЕ
АГЕНТСТВО
НАУЧНЫХ
ОРГАНИЗАЦИЙ



Организационный комитет конференции

Научный оргкомитет:

Скрябин Константин Георгиевич, академик РАН – сопредседатель;

Попов Владимир Олегович, член-корр. РАН – сопредседатель;

Гальченко Валерий Федорович, член-корр. РАН – сопредседатель;

Пименов Николай Викторович, д. б. н. – сопредседатель

Оргкомитет:

Бонч-Осмоловская, Е.А., д. б. н., проф.; *Равин Н.С.*, д. б. н., проф.;

Дедыш С.Н., д.б.н.; *Мысякина И.С.*, д.б.н.; *Хижняк Т.В.*, д.б.н.;

Камионская А.М., к.б.н.; *Фролова А.А.*, секретарь

Адрес оргкомитета: 117312, Москва, Проспект 60-летия Октября, д. 7, корп. 2.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН.

Тел.: (499) 135-21-39, Факс: (499) 135-65-30, e-mail: aa.frolova@yahoo.com

А43

Актуальные аспекты современной микробиологии: XI молодежная школа-конференция с международным участием. Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН. Москва, 1–2 ноября 2016 г.: Тезисы. – М.: МАКС Пресс, 2016. – 158 с.

ISBN 978-5-317-05395-6

УДК 579
ББК 28.4

Научное издание

**XI молодежная школа-конференция с международным участием
АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СОВРЕМЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ
Тезисы**

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского

Москва, 1–2 ноября 2016 г.

Напечатано с готового оригинал-макета

Подписано в печать 18.10.2016 г. Формат 60х90 1/8. Усл.печ.л. 19,75. Тираж 100 экз. Изд. № 276.

Издательство ООО «МАКС Пресс». Лицензия ИД N 00510 от 01.12.99 г.

119992, ГСП-2, Москва, Ленинские горы, МГУ им. М.В. Ломоносова, 2-й учебный корпус, 527 к.

Тел. 8(495)939-3890/91. Тел./Факс 8(495)939-3891.

Отпечатано в ППП «Типография «Наука»

121099, Москва, Шубинский пер., 6. Заказ 1820

повышенный уровень регуляции (up-regulation) при заражении вирусом, и при обработке зараженных клеток биназой их уровень частично или полностью возвращается к исходному положению. Индукция экспрессии 4 транскриптов длиной 554, 268, 215 и 222 п.о., расположенных на 1, 8, 27 и 31 хромосоме, соответственно, происходит в геноме MDCK при заражении вирусом, которые при обработке клеток биназой снижаются в 1897,0; 12,5; 11,2 и 6,5 раз. Экспрессия единственного транскрипта с размером 259 п.о. в положении 46439861-46440120 хромосомы 5 после индукции при заражении клеток вирусом не подавляется полностью под действием биназы, а только в 2,3 раза. Обнаружено 10 аннотированных транскриптов, которые играют ключевую роль при вирусном заражении. Подавление данных транскриптов под действием биназы повышает клеточный иммунный ответ. Таким образом, биназа помимо прямого действия на геном вируса в зараженных клетках, косвенно стимулирует клеточный иммунный ответ, активируя образование ключевых мембранных противовирусных, макрофаг- и интерферон-активирующих транскриптов. Данное исследование является предпосылкой для установления новых противовирусных мишеней в лечении гриппа и получения новых эффективных противовирусных препаратов.

ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ПОЧВЕННОЙ САПРОФАГИЧЕСКОЙ МЕЗОФАУНЫ

А.В. Якушев

Факультет почвоведения МГУ, Москва, Россия

Классификация микробных сообществ остаётся актуальной задачей почвенной микробиологии вообще, а не только изучения зоомикробных взаимодействий в почве. Классификация систематизирует общие и индивидуальные черты микробных сообществ и выявляет их связи со свойствами почв. Это важно для биоиндикации. Задача классификации решается 1. при метагеномном исследовании почв и кишечных сообществ, 2. при исследовании функционирования микробных комплексов в кишечнике беспозвоночных животных, например при анализе спектра ферментативной активности почв. Так же эту задачу решает направление, которому посвящена работа – это экофизиологическая характеристика сообществ, например по спектру потребления субстрата. Исследование экофизиологических особенностей конкретных микроорганизмов занимают давно и широко во всём мире. По существу эти исследования представляют собой аутоэкологическую характеристику изучаемых

микроорганизмов. Как правило, проводится исследование *in vitro* (в лабораторных условиях) в градиенте силы влияния абиотических (поллютанты, температура и т.д.) и биотических (антибиотики, токсины, биологические жидкости и т.д.) на те или иные кинетические (ростовые) характеристики микроорганизмов. Исходя из найденной зависимости «доза-эффект» определяется оптимум и пессимумы изучаемых биометрических параметров микроорганизмов (максимальная удельная скорость роста, урожайность микроорганизмов на среде, радиальная скорость роста колоний и т.д.). Термин «экофизиология сообщества микроорганизмов» напротив не распространён в научном мире и не имеет чётко определения. Под экофизиологической характеристикой микробного сообщества мы понимаем определение: его физиологического разнообразия, физиологического состояния его членов, преобладающей среди членов микробного сообщества экологической стратегии, установление состава физиологических групп микроорганизмов.

Цель работы — дать экофизиологическую характеристику кишечных сообществ по ряду кинетических параметров и установить возможности методов математической обработки данных: метода главных компонент, дискриминантного анализа, дисперсионного анализа для классификации микробных сообществ только по одному из экофизиологических параметров: Y - урожайность ассоциаций микроорганизмов на питательных средах. Эти параметры в работе определяются комплексным структурно-функциональным методом устанавливающим кинетические параметры жидких смешанных культур, формирующихся после инокуляции почвенной суспензией набора селективных сред. Наша рабочая гипотеза - полученные в лаборатории данные по росту этих ассоциаций отражают экофизиологические особенности микробных сообществ непосредственно в природе. Микробиологическим объектом исследования был выбран один из важнейших для почв грибной и бактериальный гидролитический блоки. Поэтому в качестве селективных были выбраны среды с антигрибными (нистатин, цилогексемид) или антибактериальными (хлорамфеникол) антибиотиками, содержащие в качестве единственного источника углерода полисахариды: крахмал, пектин, целлюлозу, хитин, инулин, агарозу, ксилан, декстран; аналог жиров: твин 20; нуклеиновую кислоту; белки: казеин, кератин. Рост ассоциаций на полимерах принимался аналогичным росту чистой культуры и описывался новой авторской математической «комплексной моделью периодической культуры», разработанной для чистой культуры микроорганизмов. Развитие ассоциаций характеризовалось параметрами этой модели. Величины кинетических параметров ассоциаций полагаются пропорциональными значениям кинетических параметров членов микробного сообщества непосредственно в почве.

Модель оперирует параметром среды s_0 – начальной концентрацией ростового субстрата s (г/л) и параметрами культуры: x_0 – начальное значение концентрации культуры x в питательной среде; $t_{\text{лаг}}$ – значение времени t когда кончается лаг-период в развитии культуры ч; μ_m – максимальное значение удельной скорости роста μ , ч⁻¹; ρ_0 – начальное значение переменной физиологического состояния растущей культуры ρ ; $\gamma = 100 + \ln(\rho_0)$ – метаболическая готовность культуры к росту на питательной среде; константа полунасыщения (г/л) $K_p = s$ при $\rho = 0.5\rho_m$, где $\rho_m = 1$ – максимальное значение ρ ; Y – экономический коэффициент роста микроорганизмов на пищевом субстрате, $Y = (x_m - x_0)/s_0$, где x_m – максимальная концентрация культуры; a_m – максимальная удельная скорость отмирания, ч⁻¹; $\tau_{\text{отм}}$ – время начала экспоненциального отмирания, ч; η_0 – значение переменной физиологического состояния η отмирающей культуры в момент начала экспоненциального отмирания.

При $t < \tau_{\text{отм}}$

$$\frac{dx}{dt} = \mu x; \mu = \mu_m \rho \frac{s}{K_s + s}; \frac{ds}{dt} = -\frac{\mu x}{Y}; \frac{d\rho}{dt} = \mu_m \rho \left(\frac{s}{K_p + s} - \rho \right)$$

При $t \geq \tau_{\text{отм}}$

$$\frac{dx}{d\tau} = -ax; \frac{da}{d\tau} = -a_m \eta; \frac{d\eta}{dt} = -a_m \eta (1 - \eta)$$

Экологическую стратегию ассоциаций мы количественно определяем по величинам параметров μ_m , K_p , μ_m/K_p , Y , a_m , η_0 , характеризующие разные участки кривой роста и отмирания периодической смешанной культуры. В данной работе мы сконцентрировали внимание на параметр Y .

Микробиологическими объектами исследования выступали грибные и бактериальные аэробные, факультативно - анаэробные сапротрофные комплексы, культивируемые на традиционных питательных средах. Непосредственным объектом исследования были корм, содержимое кишечника (транзитное кишечное сообщество) и свежие (суточные) экскременты сапротрофных двупарноногих многожек *Cylindroiulus caeruleocinctus* (Москва), *Pachyiulus flavipes* (Симеиз, Крым) *Orthomorpha* sp.1, *Thyropygus* sp. 1, неописанный вид отряда *Spirobolida* (национальный парк Вьетнам). Изучались так же корм (почва или компост в которой содержались животные) и копролиты различных экологических групп дождевых червей *Aporrectodea caliginosa* (эндогейный), *Eisenia foetida andrei* (эпигейные) и *Lumbricus terrestris* (эпи-эндогейные). Так же исследовались экскременты личинок комаров-толстоножек (сем. Bibionidae, род *Bibio* sp.) и их корма – опада широколиственных пород деревьев. В качестве дополнительных объектов

сравнения использовались данные, полученные при анализе микробных сообществ различных почв.

Анализ данных методом главных компонент показал (рис.1), что по Y (урожайность бактериальных ассоциаций на средах) микробные сообщества разделяются только по 2-м достоверным закономерностям, объясняющим суммарно 40-60% дисперсии. 1-ая: чем больше главная компонента 1, тем ниже среднее арифметическое значение Y ($r=-0,95$) - показатель функционального биоразнообразия микробных сообществ. При этом кишечное сообщество многоножек занимает крайнее левое положение, что указывает на наибольшее функциональное разнообразие гидролитического блока именно в кишечнике по сравнению с другими почвенными сообществами. 2-ая: чем больше главная компонента 2, тем больший стресс испытывает МС (в первую очередь - дефицит влаги).

В целом, однофакторный дисперсионный анализ показал, что Y на всех средах реагирует на фактор (принадлежность микробных сообществ к определённой почве) значимо ($p<0,05$) и сильно (частная $\eta^2 > 0,5$). Дискриминантный анализ параметра Y на 12 средах характеризующих 200 МС, из 60 классов позволяет подтвердить априорную классификацию со 100% точность около 70% МС (рис.2).

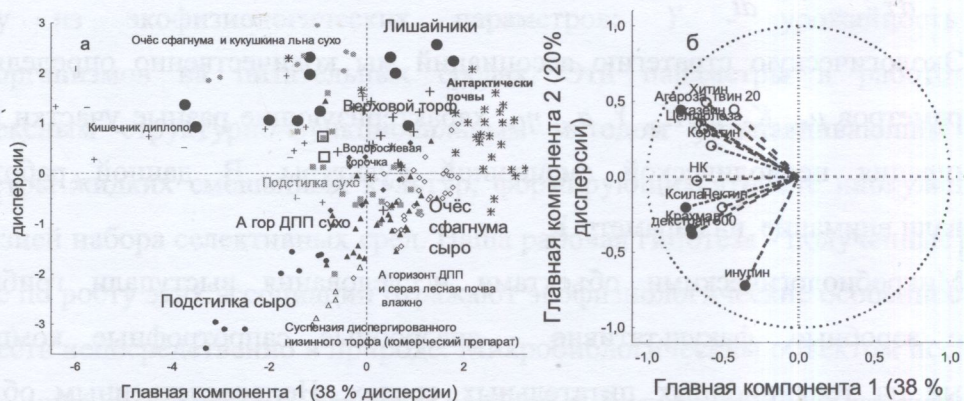


Рисунок 1. Классификация (ординация) микробных сообществ по параметру Y методом главных компонент; (а) - проекция сообществ на плоскость, образованную 1-ой и 2-ой главными компонентами; (б) - коэффициент корреляции (r) между Y на средах и главными компонентами

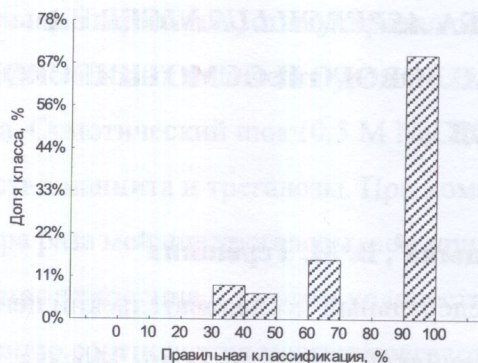


Рисунок 2. Распределение частот встречаемости различных процентов правильной классификации в дискриминантном анализе.

Физиологическое разнообразие (доля от суммарного потребления полимеров) гидролитического комплекса бактерий для корма и копролитов дождевых червей не изменяется, а для кивсяков снижается в экскрементах. Физиологическое разнообразие гидролитического грибного комплекса в следствии пассажа через кишечник диплопод снижается. Максимальная концентрация бактерий увеличивается на выбранных селективных средах после пассажа. Предположительно вызвано увеличением доли γ -стратегов в ряду сообществ корм-кишечник-экскременты. Эко-физиологические параметры экскрементов, корма и кишечника существенно различаются согласно дискриминантному анализу и методу главных компонент. Для дискриминации наиболее значимы жиры (твин 20), белки (казеин), углеводы (целлюлоза и ксилан). Увеличение доли быстрорастущих и доли физиологически активных бактерий для *Orthomorpha* от опада к кишечнику и снижение к экскрементам. В целом при пассаже метаболическая готовность грибов к росту снижается, но при этом скорость подготовки к росту увеличивается. Специфических экофизиологических отличий грибных сообществ из экскрементов и кишечника диплопод разных родов и природных зон не выявлено. Однако в целом сообщества из кишечника, экскрементов и корма различаются по виду кривой роста на средах с целлюлозой, ксиланом, инулином, кератином казеином. Реакция грибного сообщества на пассаж через кишечник диплопод зависит от физиологического состояния грибов в корме, чем более разложенная подстилка, тем эффект меньше. У сапротрофных личинок комаров-толстоножек наблюдается более существенное увеличение доли бактерий γ -стратегов, чем у детритотрофных эндогеинных дождевых червей даже при условии питания последних опадом. Что косвенно указывает на более интенсивное разложение органического вещества у комаров-толстоножек.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-50-00029.