

June 2019 | Volume 11 ISSN: 1989-5216

Archives of Medicine

PROCEEDINGS OF

48th World Congress on

MICROBIOLOGY

&

9th Edition of International Conference on

ENVIRONMENTAL

SCIENCE &

TECHNOLOGY

&

50th International Congress on

NURSING CARE

June 24-25, 2019 Moscow, Russia

9th Edition of International Conference on **Environmental Science & Technology**
&
48th World Congress on **Microbiology**
&
50th International Congress on **Nursing Care**

June 24-25, 2019 Moscow, Russia

Analysis of the taxonomic structure of the bacterial community of organic enriched black soil by the method of RT-PCR

Anastasiia I Nechaeva, Konstantin S Boyarshin, Violetta V Klueva, Yuliia N Kurkina, Valentina V Skorbach, Alexander A Sirotnin and Irina V Batlutskaia
Belgorod State University, Russia

In ensuring fertility of soils an important factor is the proper functioning of microbial communities in them. Despite the active development of powerful methods for the analysis of soil microbial communities based on metagenomic and metaproteomic approaches, taxon-specific RT-PCR remains and the most convenient for wide practical use, as the fastest and cheapest method. In this study, a technique was developed for using a set of taxon-specific primers in the taxonomic analysis of the bacterial component of the soil microflora using the example of black soil enriched with regular application of organic fertilizers. Samples of the orable black ground were taken from a depth of ~5 cm after defrosting in March and stored for three weeks at room temperature with abundant moistening to activate the microbiota. For the study, a set of taxon-specific primers was used, which includes pairs specific to six types and one class of bacteria, as well as to the Bacteria domain as a whole. According to the data obtained (Fig. 1) Firmicutes and Bacteroidetes phyla were found in large numbers in the studied sample. The Actinobacteria phylum and the Gammaproteobacteria class, belonging to the Proteobacteria phylum were represented in a smaller amount and the Verrucomicrobia phylum in very small amount. The types Deferribacteres and Tenericutes were not detected. The selection of taxon-specific pairs of primers for analysis was based on literature data indicating the presence of selected taxa in the soil microflora. A significant proportion of bacteria belonging to the types Bacteroidetes, Actinobacteria, and the Gammaproteobacteria class are consistent with the data presented in these sources. A high percentage of representatives of the type Firmicutes may be associated with the application of organic fertilizers, since the microorganisms belonging to this taxon dominate in the manure of farm animals.

Recent Publications

1. Yang Y W, Chen M K, Yang B Y, Huang X J, Zhang X R, He L Q, Zhang J and Hua Z C (2015) Use of 16S rRNA Gene-targeted group-specific primers for real-time PCR analysis of predominant bacteria in mouse feces. *Applied and Environmental Microbiology* 81:6749-6756.
2. Zarraonaindia I, Owens M, Weisenhorn P, West K, Hampton-Marcell J, Lax S, Bokulich N, Mills D, Martin G, Taghavi S, van der Lelie D and Gilbert J (2015) The soil microbiome influences grapevine-associated microbiota. *mBio* 6:e02527-14.
3. Kim Y and Liesack W (2015) Differential assemblage of functional units in paddy soil microbiomes. *PLoS ONE* 10(4): e0122221.
4. Zhang L, Li L, Pan X, Shi Z, Feng X, Gong B, Li J and Wang L (2018) Enhanced growth and activities of the dominant functional microbiota of chicken manure composts in the presence of maize straw. *Front Microbiol.* 9:1131.

Biography

Anastasiia I Nechaeva is a specialist of a wide profile in the field of industrial and soil Microbiology. Her track record includes participation in the development of an innovative pilot plant for the bioconversion of hydrogen into methane based on the autotrophic microbial consortium. Currently, she is engaged in the analysis of soil microbial communities for the needs of soil fertility restoration.

nechayeva@list.ru

9th Edition of International Conference on **Environmental Science & Technology**
&
48th World Congress on **Microbiology**
&
50th International Congress on **Nursing Care**

June 24-25, 2019 Moscow, Russia

A simple absolute quantification method for routine analysis of taxon-specific RT PCR data characterizing the fraction of archaeal DNA in soil samples

Konstantin S Boyarshin, Anastasiia I Nechaeva, Yuliia N Kurkina, Valentina V Skorbach and Irina V Batlutskaia
Belgorod State University, Russia

Analysis of microbial communities of soils is necessary to study the relationship of their productivity with the composition of their microflora and to establish the main environmental roles, mainly performed by different taxa of microorganisms. Archaea make a significant share in soil microflora, participating in carbon and nitrogen cycles, however the specificity of their functions in soil microbial communities remains largely unclear. For screening of soil samples on the content of archaeal DNA need a convenient method to compare their number in the standard conditions of isolation of total DNA and of the analysis. Absolute quantitative data are preferable for studying archaea population dynamics and its comparison in different locations. To date, taxon-specific pairs of primers have been developed that recognize the genes of 16S rRNA of the Archaea domain. In this study, to calculate the absolute concentration of archaeal DNA, taking into account some important errors, we used the formula (fig. 1) based on data from a DNA sample with a known molar concentration. The equation is based on the equality of the fluorescence values of the standard and the studied samples at the intersection of the fluorescence threshold line. It takes into account the differences in the factors of amplification and amplicon lengths for standard and test samples. The method of determining the relative representation of the lower order taxon among the representatives of the higher-order taxon was taken as a basis. The proposed method does not claim to overcome all the systematic errors arising when they use RT-PCR in the analysis of microbial communities, but also does not contradict the basic principles adopted for the analysis of data obtained in the application of RT-PCR or various tasks. In the analysis of a black soil sample using standard lambda phage DNA, a value of 0.74 p.mol/mg for archaeal 16S rRNA genes in the soil was obtained.

Recent Publications

1. Bengtson P, Sterngren A E and Rousk J (2012) Archaeal abundance across a pH gradient in an arable soil and its relationship to bacterial and fungal growth rates. *Applied and Environmental Microbiology*, 78:5906–5911.
2. Bayer K, Kamke J and Hentschel U (2014) Quantification of bacterial and archaeal symbionts in high and low microbial abundance sponges using real-time PCR. *FEMS Microbiology Ecology*, 89: 679–690.
3. Bacchetti De Gregoris T B, Aldred N, Clare A S and Burgess J G (2011) Improvement of phylum- and class-specific primers for real-time PCR quantification of bacterial taxa. *Journal of Microbiological Methods*, 86: 351–356.
4. Pfaffl M W (2004) Quantification strategies in real-time PCR. *International University Line, La Jolla, USA* 3:87-112.
5. Bustin S A, Benes V, Nolan T and Pfaffl M W (2005) Quantitative real-time RT-PCR – a perspective. *Journal of Molecular Endocrinology* 34:597–601.

Biography

Konstantin S Boyarshin has gained experience in Enzymological research, performing a PhD project on the study of mechanisms of products editing by aminoacyl-tRNA synthetases. Currently specializes in the study of complex microbial communities and the use of microbial preparations for the needs of agriculture and alternative energy. Develops principal approaches for the effective use of the results of fundamental research in applied science.

kboyarshin@mail.ru

JOINT EVENT

9th Edition of International Conference on **Environmental Science & Technology**
&
48th World Congress on **Microbiology**
&
50th International Congress on **Nursing Care**

June 24-25, 2019 Moscow, Russia

INDEX

Agus Sabdono	28	Markina N.M	53
Agus Trianto	27	Nadezhda Yuilevna Stepanova	19
Aida Mammadova	37	Ocky Karna Radjasa	10
Anastasiia I Nechaeva	54	Olga V Kamzolkina	34
Calderón R	48	Peng Tian	12
Demet Tatar	44	Somayeh Mousazadeh	39
Doolotkeldieva T D	33	Sora Yi	51
Guan Yuntao	15	Sora Yi	52
Haifeng Jia	16	Sukanya Kankaew	47
Hamideh Hakimi	38	Svetlana Ermolaeva	32
Hsiao-Yu Chen	18	Thuledi Makua	41
Hui Wang	17	Tri Truong	40
Hui Zhu	50	Viktoriiia A Iatsenko	56
Jittrarith Phothikul	46	Yaima Henry Garcia	35
Konstantin S Boyarshin	55	Yulia N Kurkina	57
Liyang Yang	30	Zhiheng Pei	13
Luisa Brito	22		

conferenceseries.com

47 Churchfield Road, London, W3 6AY, UK

Certificate

Conference Series and the Editors of Archives of Medicine, Journal of Antimicrobial Agents and Applied Microbiology: Open Access wish to thank

*Prof./Dr./Mr./Ms. **Anastasiia I Nechaeva***

Belgorod State University, Russia

*for her E-Poster Participation
at the "48th World Congress on Microbiology"
held during June 24-25, 2019 in Moscow, Russia*



Luisa Brito

University of Lisbon, Portugal

Taxonomical Structure of Black Soil Bacterial Community on the Level of Phyla

Anastasiya Nechayeva
Belgorod State National Research
University
Belgorod, Russia
nechayeva@list.ru

Viktorii Iatsenko
Belgorod State National Research
University
Belgorod, Russia
viktori-y-99@mail.ru

Konstantin Boyarshin*
Belgorod State National Research
University
Belgorod, Russia
kboyarshin@mail.ru

Violetta Klyueva
Belgorod State National Research
University
Belgorod, Russia
klyueva@bsu.edu.ru

Olga Bespalova
Belgorod State National Research
University
Belgorod, Russia
olga9078@mail.ru

Yuliya Kurkina
Belgorod State National Research
University
Belgorod, Russia
kurkina@bsu.edu.ru

Irina Batlutskaya
Belgorod State National Research
University
Belgorod, Russia
bat@bsu.edu.ru

Abstract—Soil microbial communities perform a number of important functions ensuring fertility. They depend on physical and chemical composition of soil and applied agricultural technology. To control the state of the soil, it is necessary to use methods that allow to quickly assess the dynamics of the structure of microbial communities. To develop convenient method for analysis of microbiota the set of taxon-specific primers for RT PCR, recognizing 16S rRNA genes of domain *Bacteria*, six bacterial phyla and one class was chosen. Calculation of the percentages of lower-order taxa in the upper-order taxon was carried out based on the number of amplification cycles required to achieve the threshold value of fluorescence intensity taking into account the values of amplification factors. Taxonomic structure of the bacterial component of the soil microbial community was analyzed using as an example a sample of the surface layer of arable black soil enriched with regular application of organic fertilizers. The compiled analysis protocol made it possible to obtain data on the percentages of phyla *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, and of class *Gammaproteobacteria* belonging to phylum *Proteobacteria*.

Keywords—soils, black soil, microbiome, RT-PCR

I. INTRODUCTION

One of the most important factors in ensuring soil fertility are the microbial communities functioning in it. Its functions include decomposition of complex organic substances, fixation of atmospheric nitrogen, conversion of phosphates to a soluble form, production of bioactive substances, suppression of phytopathogenic organisms and others. Their analysis is important for determining the functional state of the soil, the prospects for its agricultural use and the list of measures necessary to increase its fertility.

The methods used to analyze soil microflora include cultivation of microorganisms on differential media, real-time taxon-specific PCR (RT PCR), metagenomic

sequencing of evolutionary conserved sequences, transcriptomic, proteomic and other methods [1, 2]. The strengths of taxon-specific RT PCR include rapidity and relatively low cost of analysis, the simplicity of sample preparation, processing and interpretation of the results. This makes the method suitable for routine analysis of soil communities to compare the results with expected indicators.

In this study taxon-specific primer pairs specific for prokaryotic domains and phyla [3-5] and about usage of such ones [6-8] were selected and representative primer set was formed. Taxonomic analysis of microflora of black soil enriched by regular application of organic fertilizers was carried out.

Loss of the soil fertility due to different factors is an important problem of nowadays. A rather serious factor in the crop production is soil compaction [9]. Soil damage of this nature occurs when excessive use of heavy machinery in conditions of insufficient measures for deep loosening. This problem is especially typical for heavy soils with small average size of mineral particles.

Also important causes of loss of soil fertility are wind, water and biological erosion [10]. Biological erosion means the loss of stocks of soil organic matter as a result of the mineralization or “combustion” of humus. These reasons are manifested in the peculiarities of the wind regime, the nature of the relief and precipitation, and other phenomena influencing the cultivated soils.

Soil humus stocks consist of its active and conservative parts. The first, due to mineralization, is a gratuitous food supplier for plants [10]. Currently most of arable soils, only the conservative part of humus remains. It practically does not lend itself to mineralization; the sources of nutrition for it are fertilizers and nutrients that are formed during the mineralization of plant debris.

These and many other factors alter physical, chemical and biological properties of arable soils. The aim of this research is to elaborate a method for determination of taxonomical structure of soil bacterial communities based on RT PCR for routine practical use. On this way, we were aimed to choose a set of taxon-specific primers capable to recognize evolutionary conserved sequences identically for the major of the representatives of high rank taxa such as phyla and classes. Also, we had check applicability of chosen amplification conditions. and of available reagents of budget price segment. Using samples of the black soil rich with organics as an example, we also were to collect information about microbiota of this valuable soil type.

So, the sense of this study was to select and verify a real-time polymerase chain reaction protocol using a set of taxon-specific primers for the analysis of microflora of black soil.

II. EXPERIMENTAL

For the analysis, we used a set of taxon-specific primers for phyla and certain classes of bacteria proposed by Young *et al.* 2015 [3]. In our study, primers complementary to 16S rRNA gene sequences were chosen from this source, including pairs specific for 6 phyla and one class of bacteria, as well as for the *Bacteria* domain as a whole (table I).

Young and co-authors [3] validated all pairs using plasmid vector DNA bearing 16S rRNA genes of different taxa. The single PCR thermal cycler program, which included melting at a single temperature of 60 °C was applied. The program of the thermal cycler included 40 cycles with three stages lasting 20 s each: melting at 95 °C, annealing the primers at 60 °C and DNA elongation at 72°C.

TABLE I. TAXON-SPECIFIC PRIMERS USED IN THIS STUDY

Target taxon	Primer	Sequence	Ampli-con, bp	t _m , °C
<i>Bacteroidetes</i>	Bac960F	GTTTAATTCGATGATA CGCGAG	122	60
	Bac1100R	TTAASCCGACACCTCA CGG		
<i>Firmicutes</i>	Firm934F	GGAGYATGTGGTTTAA TTCGAAGCA	126	60
	Firm1060R	AGCTGACGACAACCAT GCAC		
<i>Actinobacteria</i>	Act664F	TGTAGCGGTGGAATGC GC	277	60
	Act941R	AATTAAGCCACATGCT CCGCT		
<i>Deferribacteres</i>	Defer1115F	CTATTTCAGTTGCTA ACGG	150	60
	Defer1265R	GAGHTGCTTCCCTCTG ATTATG		
<i>Verrucomicrobia</i>	Ver1165F	TCAKGTGAGTATGGCC CTTAT	97	60
	Ver1263R	CAGTTTTYAGGATTTC CTCCGCC		
<i>Tenericutes</i>	Ten662F	ATGTGTAGCGGTAATAA TGCGTAA	200	60
	Ten862R	CMTACTTGGGTACGTA CTACT		
<i>Gammaproteobacteria</i>	Gamma877F	GCTAACGCATTAAGTR YCCCG	189	60
	Gamma1066R	GCCATGCRGCACCTGT CT		
<i>Bacteria</i>	926F	AAACTCAAAGAATTG ACGG	136	60
	1062R	CTCACRRCACGAGCTG AC		

Unlike the original method [3], we used a mixture of reagents from Syntol (Moscow, Russia), that also provided us with the synthesis of primers. In the reaction mixture, the final concentration of magnesium ions was 2.5 mM, 0.3 µM primers, 25 and 2.5 pg/µl DNA templates.

For practical verification of the applicability of the compiled methodology, a soil sample was taken from depth of about 5 cm shortly after thawing in March and was kept for three weeks at room temperature under conditions of abundant moistening to activate microbiota. The preparation of the total soil DNA was isolated from a sample of arable black earth soil using diaGene kit by Dia-M (Moscow, Russia). The DNA concentration in preparation, determined by measuring the optical absorption at a wavelength of 260 nm, was 9.75 µg, the total amount of DNA was 39 µg.

Reactions were carried out using recombinant SynTaq DNA polymerase at pH 8.8, in the presence of 2.5 mM MgCl₂, with fluorescence detection of the SYBR Green I dye. Mixtures of 25 µl each contained 10 µl of 2.5-fold reaction mixture, 7.5 µl of primer solutions added to final concentration of 0.33 pmol/µl each, and 7.5 µl of the DNA template preparation added to final concentration of 25 and 2.5 pg/µl. Both dilutions of the DNA template were taken in triplicate. The reaction was carried out in a real-time thermal cycler CFX96 Touch by Bio-Rad (Hercules, USA). The program contained the step of melting DNA and activating DNA polymerase at a temperature of 96 °C for 5 minutes. It was followed by 40 cycles of amplification, which included three stages lasting 20 seconds: melting at 96 °C, annealing of primers at 60 °C, and elongation of the growing chain at 72 °C.

The C_q values obtained for three parallels with each pair of primers and each concentration of the DNA template were averaged and the standard error of the mean was calculated. The calculation of the amplification factor for each pair of primers was carried out according to the equation 1:

$$A = 10^{\frac{1}{Cq(25\frac{pg}{\mu l}) - Cq(2,5\frac{pg}{\mu l})}} \quad (1)$$

Determination of taxa percentage in the bacterial component of the community was carried out according to the equation 2 [2]:

$$X = \frac{A_{Cq(Bac)}}{A_{Cq(X)}} * 100 \% \quad (2)$$

where X - the percentage of DNA of a particular bacterial taxon among the entire bacterial DNA, A is the amplification factors for a universal pair of primers (Bac) and a pair of primers specific to the DNA of this taxon (X), C_q - the number of amplification cycles required to reach

the threshold value, installed by the thermal cycler software in each case (or installed manually).

III. RESULTS AND DISCUSSION

According to the data obtained (table II, fig. 1), the *Firmicutes* and *Bacteroidetes* phyla dominated in the studied sample. The *Actinobacteria* phylum and the *Gammaproteobacteria* class were represented in a smaller number, and the *Verrucomicrobia* phylum in a small number. The phyla *Deferribacteres* and *Tenericutes* have not been detected.

The choice of taxon-specific pairs of primers for analysis was based on published data indicating the presence of selected taxa in the microflora of soils [11, 12]. A significant proportion of bacteria belonging to the phyla *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* and class *Gammaproteobacteria* is consistent with the data presented in these sources. A high percentage of representatives of the phyla *Firmicutes* can be associated with the introduction of manure fertilizers, since microorganisms belonging to this taxon dominate the intestines of farm animals.

We had to compile a methodology for analyzing the taxonomic composition of soil bacterial communities at the level of phyla and certain classes of bacteria, and to confirm the effectiveness of its use. The analysis of literature allowed us to choose a set of primers that allows us to analyze some of wide-spread bacterial taxa by PCR.

TABLE II. INITIAL AND CALCULATED DATA ON THE ANALYSIS OF PERCENTAGES OF LOWER ORDER TAXA OF THE BACTERIA DOMAIN IN THE BACTERIAL COMMUNITY OF BLACK SOIL BY RT PCR

Target group	Cq (25 ng/μl)	Cq (2,5 ng/μl)	Difference	Amplification factor	%
<i>Bacteria</i>	23,07±0,26	25,67±0,06	2,60	2,42	100
<i>Bacteroidetes</i>	26,64±0,12	29,45±0,08	2,81	2,27	23,45
<i>Firmicutes</i>	26,15±0,13	28,39±0,12	2,90	2,24	49,62
<i>Actinobacteria</i>	28,79±0,18	31,60±0,24	2,81	2,27	4,02
<i>Verrucomicrobia</i>	40,21±0,67	43,36±0,15	3,18	2,06	0,017
<i>Gammaproteobacteria</i>	29,29±0,16	32,92±0,31	3,63	1,89	2,31
<i>Deferribacteres</i>	-	-	-	-	-
<i>Tenericutes</i>	-	-	-	-	-

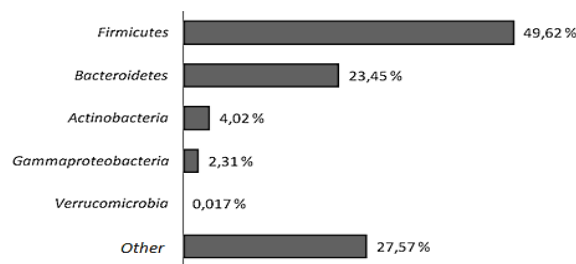


Fig. 1. Percentages of phyla *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* and class *Gammaproteobacteria* in a black soil sample.

The applied method met the requirement of applicability as a commercial rapid analysis, since it did not require use of different programs of the thermal cycler with reaction mixtures containing various pairs of primers. This feature reduces the time of analysis, allowing all the necessary reactions during the single run of a single PCR amplifier program. Thus, taking into account the duration of sample preparation, all procedures related to the analysis can be performed within one working day. So, the approach used makes it possible to achieve high performance of the method using conventional laboratory equipment.

To test the practical applicability of this technique, a preparation of total soil DNA concentration of 1,95 μg/ml in a volume of 40 μl was obtained. To isolate this preparation, a sample was selected in which the intensive development of microorganisms was expected due to high initial concentration of organic substances (which is typical for black soils), as well as due to the annual introduction of manure and compost for many years. The experiment was aimed to obtain data for one specific sample taken under known conditions to confirm the applicability of the method first of all.

The results of the analysis can be assessed as realistic because of their consistency with the literature data [11-15]. A significant proportion of bacteria belonging to the phyla *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* and class *Gammaproteobacteria* is consistent with the data presented in these sources. A high percentage of representatives of the phylum *Firmicutes* can be associated with the introduction of manure fertilizers, since microorganisms belonging to this taxon dominate the intestines of farm animals [16].

IV. CONCLUSION

As the result of the work, the methodology was selected for analysis of soil communities at the level of phyla and some classes. The list of analyzed taxa can be further expanded by the introduction of new taxon-specific primer pairs. The compiled methodology allows analysis within one day from sampling to obtaining results. Moreover, during its development it was necessary to solve a number of experimental problems, such as ensuring an acceptable purity of the extracted preparations of total soil DNA using the diaGene (Dia-M, Russia) reagent kit, as well as preventing the influence of trace amounts of bacterial DNA observed as impurities in commercial 2.5-fold reaction mixture for PCR RT produced by Synthol CJSC. Thus, the

technique we used is not an exact repetition of one described in the original work [3].

The soil sample used to test the effectiveness of the compiled methodology was taken during a period of low activity of microorganisms, however, it was incubated after selection under conditions favorable for increasing their numbers. According to the results of the analysis, it contained taxa, which were previously found in various soils in significant quantities. The unexpectedly high percentage of the phylum *Firmicutes* can be explained by the annual application of manure compost as fertilizer, which is consistent with its microbiota structure [16].

REFERENCES

- [1] K. Bayer, J. Kamke and U. Hentschel, "Quantification of bacterial and archaeal symbionts in high and low microbial abundance sponges using real-time PCR", *FEMS Microbiol Ecol*, vol. 89, № 3, pp. 679–690, 2014.
- [2] A. Sadeghi, S.A. Mortazavi, A.R. Bahrami, B. Sadeghi and M.M. Matin, "Designing a SYBR Green Absolute Real time PCR Assay for Specific Detection and Quantification of *Bacillus subtilis* in Dough Used for Bread Making", *Journal of Cell and Molecular Research*, vol. 6, № 2, pp. 83-92, 2014.
- [3] Y.-W. Yang, M.-K. Chen, B.-Y. Yang, X.-J. Huang, X.-R. Zhang, L.-Q. He, J. Zhang, Z.-C. Hua, "Use of 16S rRNA Gene-Targeted Group-Specific Primers for Real-Time PCR Analysis of Predominant Bacteria in Mouse Feces", *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 81, № 19, 2015.
- [4] T. Bacchetti De Gregoris, N. Aldred, A.S. Clare, J.G. Burgess, "Improvement of phylum- and class-specific primers for real-time PCR quantification of bacterial taxa", *Microbiol Methods*, vol. 86, pp. 351–356, 2011.
- [5] S. Thijs, M. Op De Beeck, B. Beckers, S. Truyens, V. Stevens, J.D. Van Hamme, N. Weyens and J. Vangronsveld, "Comparative Evaluation of Four Bacteria-Specific Primer Pairs for 16S rRNA Gene Surveys", *Frontiers in Microbiology*, vol. 8, article 494, 2017.
- [6] E.C. Chern, S. Siefing, J. Paar, M. Doolittle and R.A. Haugland, "Comparison of quantitative PCR assays for *Escherichia coli* targeting ribosomal RNA and single copy genes", *Letters in Applied Microbiology*, vol. 52, pp. 298–306, 2011.
- [7] W.S. Probert, C. McQuaid, K. Schrader, "Isolation and Identification of an *Enterobacter cloacae* Strain Producing a Novel Subtype of Shiga Toxin Type 1", *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 52, № 7, pp. 2346–2351, 2014.
- [8] E.C. Chern, K.P. Brenner, L. Wymer, R.A. Haugland, "Comparison of Fecal Indicator Bacteria Densities in Marine Recreational Waters by QPCR", *Water Qual Expo Health*, vol. 1, pp. 203–214, 2009.
- [9] R. Horn, H. Domżał, Anna Słowińska-Jurkiewicz, C. van Ouwerkerk, "Soil compaction processes and their effects on the structure of arable soils and the environment", *Soil and Tillage Research*, vol. 35, № 1–2, pp. 23-36, 1995.
- [10] M.G. Romanovskiy, V.V. Korovin, R.V. Shchekalev, "Humus Biodegradation", *Forestry Journal*, № 4, pp. 187-196, 2017.
- [11] I. Zarrainandia, S.M. Owens, P. Weisenhorn, K. West, J. Hampton-Marcell, S. Lax, N.A. Bokulich, D.A. Mills, G. Martin, S. Taghavi, D. van der Lelie, J.A. Gilbert, "The Soil Microbiome Influences Grapevine-Associated Microbiota", *mBio*, vol. 6, № 2, e02527-14, 2015.
- [12] Y. Kim, W. Liesack, "Differential Assemblage of Functional Units in Paddy Soil Microbiomes", *PLOS ONE*, vol. 10, № 4, e0122221, 2015.
- [13] D. Wei, Q. Yang, J.-Zh. Zhang, Sh. Wang, X.-L. Chen, X.-L. Zhang, W.-Q. Li, "Bacterial Community Structure and Diversity in a Black Soil as Affected by Long-Term Fertilization", *Pedosphere*, vol. 18, № 5, pp. 582-592, 2008.
- [14] N.A. Gagelidze, L.L. Amiranashvili, T.A. Sadunishvilia, G.I. Kvesitadze, T.F. Urushadze, T.O. Kvrivishvili, "Bacterial composition of different types of soils of Georgia", *Annals of Agrarian Science*, vol. 16, № 1, pp., 17-21, 2018.
- [15] D.M. Finney, J.S. Buyer and J.P. Kaye, "Living cover crops have immediate impacts on soil microbial community structure and function", vol. 72, № 4, pp. 361-373, 2017.
- [16] M.M. O'Donnell, H.M.B. Harris, R.P. Ross, P.W. O'Toole, "Core fecal microbiota of domesticated herbivorous ruminant, hindgut fermenters, and monogastric animals", *Microbiology Open*, vol. 6, № 5, e00509, 2017.

Microbial Community of Biogas Plant Feeding with Complex Substrate: Archaea/Bacteria Ratio Dynamics by the Stages of Fermentation

Viktoriiia Iatsenko
Belgorod State National Research
University
Belgorod, Russia
viktori-y-99@mail.ru

Violetta Klyueva
Belgorod State National Research
University
Belgorod, Russia
klyueva@bsu.edu.ru

Anastasiya Nechayeva
Belgorod State National Research
University
Belgorod, Russia
nechayeva@list.ru

Dmitriy Ohrimchuk
L.L.C. "AltEnergo"
Belgorod, Russia
okhrimchuk88@rambler.ru

Irina Batlutskaya
Belgorod State National Research
University
Belgorod, Russia
bat@bsu.edu.ru

Konstantin Boyarshin*
Belgorod State National Research
University
Belgorod, Russia
kboyarshyn@mail.ru

Vladimir Bredihin
L.L.C. "AltEnergo"
Belgorod, Russia
bvp@altenergo.su

Abstract—The technology of anaerobic fermentation of organic substrates and especially of organic wastes with rich microbiota needs effective method to observe the microbial community on the different stages of substrate transformation, including its digestion, fermentation and conversion of its products to methane. The fast and cheap method based on taxon-specific RT PCR is developed to assess density of *Archaea* and *Bacteria* population in complex microbial communities. The data obtained on the samples from the industrial biogas plant on the different technological stages are consistent with processes that should evolve during fermentation.

Keywords—microbiota, microbial communities, RT PCR, bimethanation, biogas

I. INTRODUCTION

Biogas production is a promising field of alternative energy with substantial economic [1] and ecological [2] potential. Efficiency of bimethanation process totally depends on the structure of the microbiota that performs decomposition of substrates, their fermentation and generation of methane [3, 4]. Complexity and dynamical behavior of microbial communities involved in the anaerobic fermentation technology attracts attention of researchers especially for last decade [5-8].

Due to economic reasons the substrate composition for large biogas plant is really unique and varies throughout the year. It makes impossible to elaborate the universal technological model to govern the parameters of bimethanation process. More, the response of microbial community to some feeding and conditional changes may pass some bifurcation points and be influenced by random fluctuations [9]. So, continuous optimization of the process

needs regular analysis of chemical and biological parameters of the fermenting mix and effluent.

Bacteria and *Archaea* play different roles in biometanation process and their quantities are important parameter to govern it [10, 11]. The aim of our work is to elaborate the fast and cheap method for quantification of *Archaea* and *Bacteria* in complex microbial communities. The common approach implies data standardization using cloned 16S rRNA genes of some representatives of the taxa that are to assess [12]. The same time the data observed remain still method-dependent because of unequal binding capacity of primers chosen to target genes of different representatives of a taxon leading to biases in the resulting data. So, for practical purposes it is of sense to use standardization by such widely used DNA sequence as lambda phage DNA. This way is easier, cheaper and more universal. In the present study we have tested it.

For quantification of the data, the simple equation was formulated based on the equal fluorescence of samples on the chosen threshold line (on the line generated by the software of the equipment). It depends on the cycle quantity (Cq) at the chosen matrix dilution, amplification factor and the amplicon length, effecting dye binding capacity.

II. EXPERIMENTAL

To achieve the aim of the work RT PCR technology was used. We employed three primer pairs specific to 16S rRNA genes of *Bacteria* and *Archaea* (from literature [13]) and to lambda phage DNA (based on its genome sequence data) (fig. 1). All three primer pairs showed good amplification factors (close to 2) when use the common annealing temperature 60 °C (data not shown). Primer pairs specific to the 16S rRNA genes of *Bacteria* and *Archaea* contained one or two degenerate positions necessary to ensure maximum coverage of sequences belonging to these taxa.

Target taxon	Primer name	Primer sequence	Melting temperature used	Amplicon length
Bacteria	E1052f	TGCATGGYTGTCGTCAGCTCG	60	141
	E1193r	CGTCRTCCCCRCCTTCC		
Archaea	A967f	AATTGGCGGGGAGCAC	60	101
	A1060r	GGCCATGCACWCCTCTC		
λ-phage	L13915-F	TTTCGGGACGTATCATGCT	60	147
	L14061-R	ACCCTCAGGCATTGCTG		

Fig. 1. Primer pairs used in the research.

311.24 pM lambda phage DNA was added to each 150 µl sample of fermenting mix and effluent prior to microbiota DNA isolation to enable quantification of bacterial and archaeal 16S rRNA genes despite occasional levels of DNA losses. DNA was isolated using diaGene DNA extraction kit (Dia-M, Russia). Reaction mixture for RT PCR contained 2.5x Reaction Mix with SYBR Green I (Syntol, Russia), 5, 0.5 or 0.05 µg/ml of template DNA and 0.3 µM of each primer. The amplification program included initial denaturing step at 95 °C for 5 min and 40 cycles of three steps at 95, 60 and 72 °C for 20 s each.

Quantification of bacterial and archaeal 16S rRNA genes was carried out using the formula 1 based on the assumption of equality of lambda phage and bacterial/archaeal amplicon DNA mass amounts in the fluorescence threshold points. It is necessary to take into account the length of amplicons, since it is proportional to the number of fluorescent dye molecules binding to them.

$$C_1 = C_\lambda \frac{A_\lambda^{Cq_\lambda} L_\lambda}{A_1^{Cq_1} L_1} \quad (1)$$

The known concentration of starting lambda DNA added prior to processing of samples was used for quantity determination of the taxon of interest by formula 1. C means molar concentration of recognizable sequences on the template DNA, L – amplicon length, A – amplification factor, Cq – amplification cycle quantity needed to achieve the fluorescence intensity threshold for the chosen template dilution. Index λ corresponds standard DNA (lambda phage), index 1 – DNA to be analyzed.

Amplification factors for three primer pairs were calculated on the base of three 10-fold template dilutions used in triplicate. Despite the presence of DNA recognizable by the primers for lambda phage in the control DNA preparations without its addition, amount of such sequences was negligible compared with amount of lambda phage DNA added to the main preparations and could not influence the results.

The biogas plant “Luchki” (AltEnergO L.L.C.) is situated in the north of Belgorod oblast (Russia). Its architecture consists of the four main tanks with mixing and thermostat facilities. Fermenting mix from tanks 1 and 2 enters the tank 3, than the tank 4 and than is discarded and utilized (fig. 2). Tanks 1 and 2 are loaded with complex mix of swine manure, meat waste, silage, sugar beet pulp and other organic substrates. Operating temperature is 39 °C.

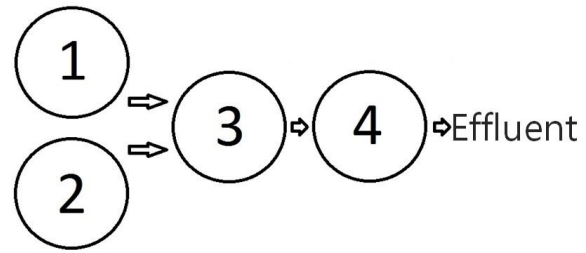


Fig. 2. The flow direction of the fermentation mixture between the four tanks at the biogas plant "luchki" during sampling.

III. RESULTS AND DISCUSSION

Molar concentrations of 16S rRNA genes of *Bacteria* and *Archaea* that were determined in the present study are shown in table I and in fig. 3. The most dense bacterial population we detected in the tanks 2 and 3. This should point the most intense processes of substrate decomposition and fermentation. The highest amount of *Archaea* is observed in the tank 3. Here we should observe the most active methanogenesis processes. The lowest levels of both *Bacteria* and *Archaea* are in the tank 4 and in effluent poured out from it.

The level of *Bacteria* varies from 615 pM of their 16S rRNA genes to 1.5 nM. *Archaea* level in all the cases is much lower and counts from 10 to 125 pM. *Archaea* percentages are from 1.6 to 8.3 % showing numeral dominance of *Bacteria*. These results are consistent with previous studies [5-8] and reflect biochemical balance of syntrophic cooperation in methanogenic microbial communities [14]. In general, the processing steps of the substrate preceding the release of methane lead to the extraction of most of the energy from the compounds contained therein. Accordingly, when they occur, the largest part of the biomass of microorganisms present in the reactor is formed. Thus, at all technological stages of substrate fermentation, the biomass of bacteria, and, accordingly, their genomic DNA, dominates. This seems to be quite expected, given that the main direct precursors of methane, namely acetic acid, hydrogen and carbon dioxide [10], are the products of fermentation of those energy-rich compounds that are in the substrate, and only the waste of these processes get *Archaea* by syntrophic interaction with *Bacteria*.

TABLE I. MOLAR CONCENTRATIONS OF BACTERIAL AND ARCHAEL 16S RRNA GENES IN THE SAMPLES FROM DIFFERENT TANKS AND EFFLUENT OF BIOGAS PLANT “LUCHKI” AND THE PERCENTAGES OF ARCHEAL ONES

	Tank 1	Tank 2	Tank 3	Tank 4	Effluent
<i>Bacteria</i> , pM	776	1 571	1 461	615	634
<i>Archaea</i> , pM	71	32	125	10	17
<i>Archaea</i> , %	8.3	2.0	7.9	1.6	2.6

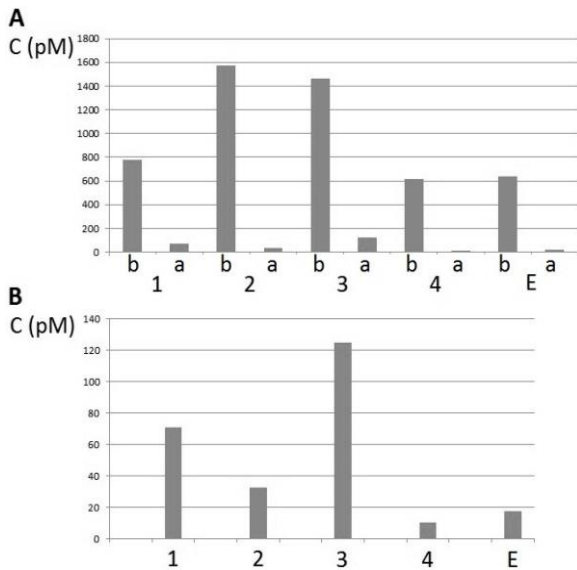


Fig. 3. A: molar concentrations of 16S rRNA genes of *Bacteria* (b) and *Archaea* (a) in different tanks (1, 2, 3, 4) of the biogas plant and in the drained effluent (E). B: the same for *Archaea* only.

The ratio of representatives of two prokaryotic domains of life (fig. 4) is different in two bioreactors for primary fermentation (1 and 2) that are fed with different substrate compositions, this is not surprising because of the differences in the amount and the nature of resources and accordingly in the tasks facing the microflora in both cases.

In the tank 2 *Archaea* concentration is twice lower and *Bacteria* concentration is twice higher than in tank 1. Tank 3 is fed with fermenting mix from tanks 1 and 2 equally, but the composition of microbiota in it tends to show *Bacteria* concentration higher than average between tanks 1 and 2. So digestion and fermentation processes performed by *Bacteria* are increasing on the way to the tank 3. The same time *Archaea* concentration increase in the tank 3 strongly showing the result of the substrate fermentation that is leading to higher availability of its products that are used by *Archaea* for active production of methane and for upscale of their biomass. The main part of methane is produced in the tank 3 and the process lowers strongly in tank 4 needed to gather the rest of the gas. Microbiota of the effluent is predictably similar to that of the tank 4.

Comparing with fig. 3 it becomes obvious that despite the overall similarity between diagrams 3B and 4 only absolute quantitative data can provide satisfactory information about microbiota dynamics during the fermentation process occurring in the plant.

The results show that by the time the fermented mixture is drained, both the content of *Bacteria* and the content of *Archaea* lower in it. Thus, the nutrient potential of the substrate has time to be depleted.

IV. CONCLUSION

The results are consistent with technological partition of the biomethanation process in the plant and confirm applicability of the method used. As shown in the previous sections, the quantitative data obtained correspond to the literature [5-8] and lend themselves to theoretical explanation.

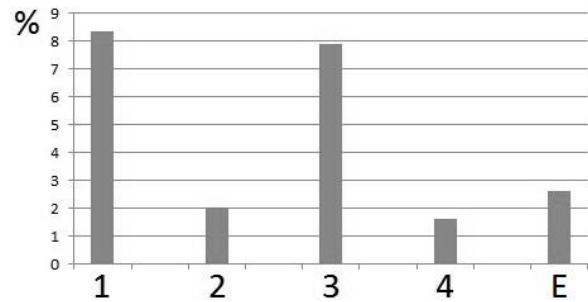


Fig. 4. *Archaea* percentages in different tanks (1, 2, 3, 4) of the biogas plant and in the effluent (E).

One of the main conclusions from the obtained data is the practical insufficiency of determining taxon ratios for the assessment of processes in a biogas plant. *Archaea* percentage depends not only on density of their population but also on the density of the population of *Bacteria*. Paying attention to trophic dependence of methanogenic *Archaea* on functions provided by *Bacteria* we still cannot achieve any strict relation between their populations. Bacterial communities in a biogas plant would be very different in the presence of different substrate compositions, this would lead to different efficiency of syntrophic interactions with methanogens [15, 16]. This all provides necessity to base on absolute quantitative data resuming microbiota composition in the biogas plant on different stages of fermentation. Development of a convenient method for estimating the absolute numbers of microorganisms belonging to different taxa in complex microbial communities, performed in our study, allows us to obtain information of this kind for a variety of practical applications.

ACKNOWLEDGMENT

The study was conducted with the support of a grant of the Department of Agriculture and Environment Restoration of Belgorod oblast of Russia received in 2019.

REFERENCES

- [1] M. Carlini, E.M. Mosconi, S. Castellucci, M. Villarini and A. Colantoni "An Economical Evaluation of Anaerobic Digestion Plants Fed with Organic Agro-Industrial Waste", *Energies*, vol. 10, № 8, 1165, pp. 1-15, 2017.
- [2] V. Paolini, F. Petracchini, M. Segreto, L. Tomassetti, N. Naja and A. Cecinato "Environmental impact of biogas: A short review of current knowledge", *Journal of Environmental Science and Health*, vol. 53, № 10, pp. 899-906, 2018.
- [3] F.R. Bengelsdorf, U. Gerischer, S. Langer, M. Zak and M. Kazda "Stability of a biogas-producing bacterial, archaeal and fungal community degrading food residues", *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 84, № 1, pp. 201-212, 2013.
- [4] R. Wirth, E. Kovács, G. Maróti, Z. Bagi, G. Rákhely and K.L. Kovács "Characterization of a biogas-producing microbial community by short-read next generation DNA sequencing", *Biotechnology for Biofuels*, vol. 5, № 1, 41, 2012.
- [5] I. Bergmann, E. Nettmann, K. Mundt, M. Klocke, "Determination of methanogenic *Archaea* abundance in a mesophilic biogas plant based on 16S rRNA gene sequence analysis", *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 56, № 5, pp. 440-444, 2010.
- [6] I. Bergmann, K. Mundt, M. Sontag, I. Baumstark, E. Nettmann, M. Klocke, "Influence of DNA isolation on Q-PCR-based quantification of methanogenic *Archaea* in biogas fermenters", *Syst Appl Microbiol*, vol. 33, № 2, pp. 78-84, 2010.
- [7] Y.S. Kim, M. Westerholm, P. Scherer, "Dual investigation of methanogenic processes by quantitative PCR and quantitative

- microscopic fingerprinting”, *FEMS Microbiol Lett*, vol. 360, pp. 76–84, 2014.
- [8] J. Lambrecht, N. Cichocki, Th. Hübschmann, Ch. Koch, H. Harms and S. Müller, “Flow cytometric quantification, sorting and sequencing of methanogenic archaea based on F420 autofluorescence”, *Microb Cell Fact*, vol. 16, № 180, pp. 1-15, 2017.
- [9] S. Theuerl, J. Klang and A. Prochnow “Process Disturbances in Agricultural Biogas Production—Causes, Mechanisms and Effects on the Biogas Microbiome: A Review”, *Energies*, vol. 12, № 3, 365, pp. 1-20, 2019.
- [10] F. Enzmann, F. Mayer, M. Rother and D. Holtmann “Methanogens: biochemical background and biotechnological applications”, *AMB Express*, vol. 91, № 1, pp. 1-22, 2018.
- [11] P.G. Kougiyas and I. Angelidaki “Biogas and its opportunities—A review”, *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, vol. 12, № 14, pp. 1-12, 2018.
- [12] S. Broedersa, I. Huberb, L. Grohmannc, G. Berbend, I. Tavernierse, M. Mazzara, N. Roosensa and D. Morisset “Guidelines for Validation of Qualitative Real Time PCR Methods”, *Trends in Food Science & Technology*, vol. 37, № 2, pp. 115-126, 2014.
- [13] K. Bayer, J. Kamke and U. Hentschel “Quantification of bacterial and archaeal symbionts in high and low microbial abundance sponges using real-time PCR”, *FEMS Microbiology Ecology*, vol. 89, № 3, pp. 679-690, 2014.
- [14] L. Zhang, K.-Ch. Loh, J.W. Lim and J. Zhang “Bioinformatics analysis of metagenomics data of biogas-producing microbial communities in anaerobic digesters: A review.” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 100, pp. 110-126, 2019.
- [15] Sun L., Liu T., Müller B. and Schnürer A. “The microbial community structure in industrial biogas plants influences the degradation rate of straw and cellulose in batch tests”, *Biotechnol Biofuels*, vol. 9, № 128, pp. 1-20, 2016.
- [16] A. Rabii, S. Aldin, Y. Dahman and E. Elbeshbishy “A Review on Anaerobic Co-Digestion with a Focus on the Microbial Populations and the Effect of Multi-Stage Digester Configuration”, *Energies*, vol. 12, № 6, 1106, pp. 1-25, 2019.

Минобрнауки России
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Белгородский государственный национальный
исследовательский университет»
Институт фармации, химии и биологии

INNOVATIONS IN LIFE SCIENCES

Сборник материалов
Международного симпозиума

Белгород, 10–11 октября 2019 года



Белгород 2019

УДК 54.06:574:579:615.1:631
ББК 24+28+48.6+52.8
И 67

Рекомендовано к изданию редакционно-издательским советом Института фармации, химии и биологии НИУ «БелГУ» (протокол № 1 от 20.09.2019)

Рецензенты:

А.В. Стадниченко, доктор фармацевтических наук,
заместитель директора по качеству ООО «Белфармамед»;

Е.Г. Жилияков, доктор технических наук, профессор,
заведующий кафедрой информационно-телекоммуникационных систем и технологий
Института инженерных и цифровых технологий НИУ «БелГУ»

И 67 **Innovations in life sciences:** сборник материалов Международного симпозиума. Белгород, 10–11 октября 2019 г. / под общ. ред. И.В. Спичак. – Белгород: ИД «Белгород» НИУ «БелГУ», 2019. – 264 с.

ISBN 978-5-9571-2811-3

В сборнике представлены тезисы Международного симпозиума «Innovations in life sciences» с широким междисциплинарным охватом научных тематик: генетика и селекция растений, фармация, биотехнология, источники и свойства биологически активных веществ, инновационные технологии в индустрии питания, современная ветеринарная медицина. Материалы сборника представляют интерес для ученых, преподавателей, аспирантов, магистрантов, студентов естественнонаучных и медицинских направлений и специальностей.

Тезисы публикуются в авторской редакции.

УДК 54.06:574:579:615.1:631
ББК 24+28+48.6+52.8

ISBN 978-5-9571-2811-3

© НИУ «БелГУ», 2019

Маслова Е.В., Глодик Т.В., Семькина В.В., Перелыгина Т.А. Изучение антимикробной активности каллусной ткани <i>Salvia pratensis</i> L. (Lamiaceae) в условиях <i>in vitro</i>	141
Мизина П.Г. Актуальность использования растительных лекарственных средств в технологиях здоровьесбережения	143
Молчанова Е.Н., Мирошниченко А.П. Зернобобовые культуры: растущие возможности в пищевой системе	144
Мячикова Н.И., Биньковская О.В., Болтенко Ю.А., Коротких И.Ю. Изучение азотсодержащих веществ порошкообразного полуфабриката из культивируемых грибов <i>Pleurotus ostreatus</i>	146
Мячикова Н.И., Бурменко Ю.В., Сорокопудов В.Н., Сорокопудова О.А., Колесников Д.А. Влияние высокого давления на сохранение продукции растительного происхождения.....	148
Надеждин С.В., Покровская Л.А., Бурда Ю.Е., Зубарева Е.В., Беляева В.С., Мовчан Е.А. Стромальные стволовые клетки как источник биологически активных веществ, обладающих остеоиндуктивными свойствами.....	150
Нгуен Ван Ань, Дудина А.А., Дейнека В.И. Супрамолекулярные комплексы β -циклодекстрина с сопряженными жирными кислотами: получение и стабильность.....	152
Нецветаев В.П., Козелец Я.О., Ащеулова А.П. Оценка сцепление генов, контролирующих изоферменты бета-амилазы, с локусами Rht-D1 и V1 мягкой пшеницы	154
Nechayeva A.I., Yatsenko V.A., Boyarshin K.S., Klyueva V.V., Kurkina Yu.N., Batlutskaya I.V. Taxonomical structure of black soil bacterial community on the level of phyla	156
Нигматзянов Р.А., Бурменко Ю.В., Сорокопудов В.Н., Вострикова Т.А., Сорокопудова О.А., Воронин А.А. Биохимический потенциал <i>Ribes aureum</i> Purch в различных условиях культивирования.....	158
Овод А.И., Купчинская И.Н., Бородавкин Д.В. Маркетинговое исследование рынка лекарственных средств для лечения урогенитального трихомониаза	159

Чернявских В.И., Думачева Е.В. Фитоценотическая активность многолетних бобовых трав в условиях конкуренции.....	246
Чернявских В.И., Коноплев В.В., Думачева Е.В., Горбачева А.А., Воробьева О.В., Королькова С.В. Селекция медоносных культур: опыт Белгородской области.....	248
Чижикова С.С., Ольховая К.К. Изменчивость крупнозерных сортов риса по признакам качества зерна при различном уровне азотного питания	250
Чуян Е.Н, Раваева М.Ю., Черетаев И.В., Придатко А.И., Шульгин В.Ф., Бирюкова Е.А. Биоскрининг спейсерированных бис(2-пиридил-1,2,4-триазолов) и их аддуктов с дифосфоновыми кислотами.....	252
Шамбазова С.А., Концевая С.Ю. Электронная ветеринарная сертификация как решение проблемы прослеживаемости продукции	254
Щуклина О.А., Энзекрей Е.С., Завгородний С.В., Ермоленко О.И., Ворончихина И.Н., Клименков Ф.И., Клименкова И.Н., Полховский А.В. Ретроспектива селекции яровых пшенично-пырейных гибридов в отделе отдаленной гибридизации ГБС РАН.....	256
Энзекрей Е.С., Щуклина О.А., Соловьев А.А., Завгородний С.В., Ермоленко О.И., Ворончихина И.Н., Полховский А.В. Изучение потенциальной продуктивности нового сорта яровой тритикале Тимирязевская 42 при внесении азотных удобрений	258
Iatsenko V.A., Nechaeva A.I., Boyarshin K.S., Klyueva V.V., Ohrimchuk D.P., Bredihin V.P., Batlutskaya I.V. Microbial community of biogas plant feeding with complex substrate: archaea/bacteria ratio dynamics by the stages of fermentation	260
Гагиева Л.Ч., Цугкиев Б.Г., Думачева Е.В., Глубшева Т.Н., Королькова С.В. Зависимость содержания биологически активных веществ в траве <i>Betonica macrantha</i> K.Koch. от ритма сезонного развития	262

Как видно, локус β -Amy-A1 расположен на расстоянии $13,70 \pm 3,37\%$ рекомбинации от гена *B1*, контролирующего остистость колоса хромосомы 5A. Другой локус, β -Amy-D1, показал сцепление величиной около 35% рекомбинации с геном *Rht-D1*, расположенным в хромосоме 4D и ответственным за высоту растений (табл. 2).

Таблица 2. Оценка сцепления локусов, контролирующих синтез изоферментов бета-амилазы (X- β), и фактора *Rht2* (= *Rht-D1b*) в комбинации F₂ АНК-12 x Pyrotrix

Символы аллелей	Фенотипы в F ₂			Фаза	χ^2_L	Процент рекомбинации
		B ₋	b			
$\frac{A}{a} \times \frac{B}{b}$						
$\frac{A-\beta}{a-\beta} \times \frac{Rht-D1a}{Rht-D1b}$	A ₋	115	2	притяж.	0,14	независимая
	aa	41	1			
$\frac{D-\beta}{d-\beta} \times \frac{Rht-D1a}{Rht-D1b}$	A ₋	118	2	притяж.	5,49	38,89 \pm 4,75
	aa	38	1			
$\frac{B-\beta}{b-\beta} \times \frac{Rht-D1a}{Rht-D1b}$	A-C ₋ ,--	147	3	притяж.	89,87	33,40 \pm 10,31
	aaC ₋ ,--	9	3			

Литература.

1. Ainsworth C.C., Gale M.D. & Baird S.// Theoretical and Applied Genetics. 1983. V. 66. P. 39-49.
2. Sharp P.J., Desai S. & Gale M.D.// Theoretical and Applied Genetics. 1988. V. 76. P. 691-699.
3. McIntosh R.A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., et. al. // 12th International Wheat Genetics Symposium, 8-13 September 2013. Yokohama, Japan, 29-30, Supplements, 2017.

TAXONOMICAL STRUCTURE OF BLACK SOIL BACTERIAL COMMUNITY ON THE LEVEL OF PHYLA

Nechayeva A.I., Yatsenko V.A., Boyarshin K.S., Klyueva V.V., Kurkina Yu.N., Batlutskaya I.V.

Belgorod State National Research University (BelSU), Belgorod, Russia, kboyarshin@mail.ru

In ensuring soil fertility, an important factor is the microbial communities functioning in them. Their analysis is important to determine the functional state

of the soil, the prospects for its use in agriculture and measures that will increase its fertility. Despite the active development of powerful methods for the analysis of soil microbial communities based on metagenomic and metaproteomic approaches, taxon-specific RT-PCR remains the most convenient for wide practical use, as the fastest and cheapest method.

In this study, a technique was developed for using a set of taxon-specific primers in the taxonomic analysis of the bacterial component of the soil microflora using the example of black soil enriched with regular application of organic fertilizers.

Soil samples were taken from a depth of ~ 5 cm after thawing in March and stored for three weeks at room temperature with abundant moistening to activate the microbiota. For the study, a set of taxon-specific primers [1] was used, which included pairs specific to 6 phyla and one class of bacteria, as well as to the *Bacteria* domain as a whole.

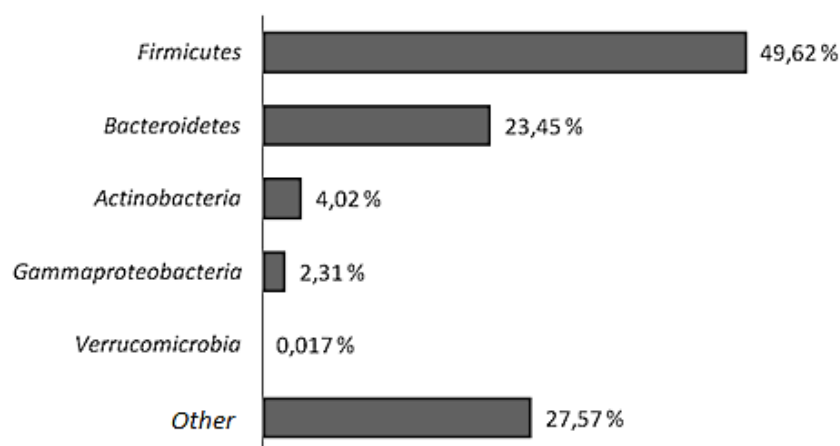


Fig. 1. Percentages of phyla *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* and class *Gammaproteobacteria* in a black soil sample

According to the data obtained, *Firmicutes* and *Bacteroidetes* phyla were found in large numbers in the studied sample (fig. 1). The phylum *Actinobacteria* and class *Gammaproteobacteria*, belonging to the phylum *Proteobacteria*, were represented in a smaller amount, and the phylum *Verrucomicrobia* - in the insignificant amount. The phyla *Deferribacteres* and *Tenericutes* were not detected.

Choice of taxon-specific pairs of primers for analysis was based on literature data indicating the presence of chosen taxa in the soil microflora [2, 3]. A significant proportion of bacteria belonging to phyla *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, and class *Gammaproteobacteria* is consistent with data presented in these sources. A high percentage of representatives of the phylum *Firmicutes* may be associated with the application of organic fertilizers, since the microorganisms belonging to this taxon dominate in the manure of farm animals [4].

Reference:

1. Yun-Wen Yang Use of 16S rRNA Gene-Targeted Group-Specific Primers for Real-Time PCR Analysis of Predominant Bacteria in Mouse Feces / Yun-Wen Yang, Mang-Kun Chen, Bing-Ya Yang, Xian-Jie Huang, Xue-Rui Zhang, Liang-Qiang He, Jing Zhang, Zi-Chun Hua // Applied and Environmental Microbiology, 2015 - Volume 81 - №19.
2. Iratxe Zarraonaindia. The Soil Microbiome Influences Grapevine-Associated Microbiota / Iratxe Zarraonaindia, Sarah M. Owens, Pamela Weisenhorn, Kristin West, Jarrad Hampton-Marcell, Simon Lax, Nicholas A. Bokulich, David A. Mills, Gilles Martin, Safiyh Taghavi, Daniel van der Lelie, Jack A. Gilbert // mBio, 2015 - Volume 6 - Issue 2 e02527-14.
3. Yongkyu Kim. Differential Assemblage of Functional Units in Paddy Soil Microbiomes / Yongkyu Kim, Werner Liesack // PLOS ONE, 2015.
4. Michelle M. O' Donnell Core fecal microbiota of domesticated herbivorous ruminant, hindgut fermenters, and monogastric animals / Hugh M. B. Harris, R. Paul Ross, Paul W. O'Toole // Microbiology Open, 2017:e509

БИОХИМИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ *RIBES AUREUM PURSH* В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

***Нигматзянов Р.А.¹, Бурменко Ю.В.², Сорокопудов В.Н.²,
Вострикова Т.А.³, Сорокопудова О.А.², Воронин А.А.³***

1 – Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Россия, Уфа, radmil.nigmatzyanov@yandex.ru.

2 – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства", Россия, Москва,

3 – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Воронежский государственный университет", Россия, Воронеж,

Ribes aureum Pursh нетрадиционная пищевая культура. Сорты этой культуры обладают широкой экологической пластичностью, что позволяет их возделывать в условиях, где другие виды смородины чувствуют себя угнетенно. В ягодах смородины золотистой содержатся сахара (6,3 - 17,0 %), сухие вещества (17 - 25 %), витамин С (23,2 – 125 мг %.), пектин (0,6 - 2,9 %), органические кислоты (до 2,1 %), антоцианы (200 - 470 мг %). По содержанию в ягодах каротина (8- 19 мг % в пересчете на β-каротин) *R. aureum* стоит на первом месте в роде смородин. Плоды *R. aureum* имеют различную окраску, от желтой с переходом через красный до черной. Максимальное содержание каротина характерно для наиболее темноокрашенных форм.

В период с 2010 по 2016 года проведено многолетнее исследование первых районированных в России сортов смородины золотистой 'Венера', 'Ляйсан' и 'Шафак' в условиях Белгородской области и республике Башкортостан. Регионы различны по климатическим условиям, так для

MICROBIAL COMMUNITY OF BIOGAS PLANT FEEDING WITH COMPLEX SUBSTRATE: ARCHAEA/BACTERIA RATIO DYNAMICS BY THE STAGES OF FERMENTATION

*Iatsenko V.A.¹, Nechaeva A.I.¹, Boyarshin K.S.¹, Klyueva V.V.¹,
Ohrimchuk D.P.², Bredihin V.P.², Batlutskaya I.V.¹*

1 – Belgorod State National Research University (BelSU), Belgorod, Russia, kboyarshin@mail.ru

2 – L.L.C. “AltEnergo”, Belgorod, Russia

Bacteria and *Archaea* play different roles in biometanation process and their quantities are important parameter to govern it [1, 2]. The aim of our work is to elaborate the fast and cheap methodic for quantification of *Archaea* and *Bacteria* in methanogenic communities. To achieve it RT PCR technology was used with three primer pairs specific to 16S rRNA genes of *Bacteria* and *Archaea* [3] and to lambda phage DNA. 311.24 pM lambda phage DNA was added to each 150 µl sample of fermenting mix and effluent prior to microbiota DNA isolation to enable quantification of bacterial and archaeal 16S rRNA genes despite occasional levels of DNA losses. DNA was isolated using diaGene DNA extraction kit (Dia-M, Moscow). Reaction mixture for RT PCR contained 2,5x Reaction Mix + SYBR Green I (Syntol, Moscow), 5 µg/ml of template DNA and 0.3 µM of each primer. The amplification program included 5 min 95 °C initial denaturing step and 40 cycles with 95, 60 and 72 °C steps 20 s each.

Quantification of bacterial and archaeal 16S rRNA genes was carried out using the formula based on the assumption of equality of lambda phage and bacterial/archaeal amplicon DNA mass amounts in the fluorescence threshold points.

$$C_1 = C_\lambda \frac{A_\lambda^{Cq_\lambda} L_\lambda}{A_1^{Cq_1} L_1}$$

C – molar concentration of recognizable sequences on the template DNA, L – amplicon length, A – amplification factor, Cq – amplification cycle quantity needed to achieve the fluorescence intensity threshold for the chosen template delution. Index λ corresponds standard DNA (lambda phage), index 1 – DNA to be analysed.

Amplification factors for three primer pairs were calculated on the base of three 10-fold template dilutions used in triplicate. Despite the presence of DNA recognizable by the primers for lambda phage in the control DNA preparations without its addition, amount of such sequences was negligible compared with amount of lambda phage DNA added to the main preparations and could not influence the results.

The biogas plant “Luchki” (AltEnergo L.L.C.) is situated in the north of Belgorod oblast (Russia). Its architecture consists of the four main tanks with mixing and thermostat facilities. Fermenting mix from tanks 1 and 2 enters tank 3, than tank 4 and than is discarded and utilized. Tanks 1 and 2 are loaded with complex mix of swine manure, meat waste, silage, sugar beet pulp and other organic substrates. Operating temperature is 39 °C. Molar concentrations of 16S rRNA genes of *Bacteria* and *Archaea* that were determined in the present research are shown on the table 1.

Table 1

Molar concentrations of bacterial and archaeal 16S rRNA genes in the samples from different tanks and effluent of biogas plant “Luchki” and the percentages of archeal ones.

	Tank 1	Tank 2	Tank 3	Tank 4	Effluent
<i>Bacteria</i> , pM	776	1 571	1 461	615	634
<i>Archaea</i> , pM	71	32	125	10	17
<i>Archaea</i> , %	8.3	2.0	7.9	1.6	2.6

The most dense bacterial population we detected in the tanks 2 and 3. This should mark the most intense processes of substrate decomposition and fermentation. The highest amount of archaea is observed in the tank 3. Here we should observe the most active methanogenesis processes. The lowest levels of both bacteria and archaea are in the tank 4 and in effluent poured out from it. The results are consistent with technological partition of the biomethanation process in the plant and confirm applicability of the method used.

Literature

1. Enzmann F., Mayer F., Rother M., Holtmann D. // *AMB Express*. 2018. V. 91. Article number: 1.
2. Kougias, P.G., Angelidaki, I. // *Frontiers of Environmental Science & Engineering*. 2018. V. 12. N. 14. P. 1-12.
3. Bayer K., Kamke J., Hentschel U. // *FEMS Microbiology Ecology*. 2014. V. 89. N. 3. P. 679-690.

**МЕЖДУНАРОДНЫЙ ЦЕНТР НАУЧНОГО СОТРУДНИЧЕСТВА
«НАУКА И ПРОСВЕЩЕНИЕ»**



НАУКА И ИННОВАЦИИ В XXI ВЕКЕ:

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ, ОТКРЫТИЯ И ДОСТИЖЕНИЯ
СБОРНИК СТАТЕЙ XIV МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ,
СОСТОЯВШЕЙСЯ 25 АВГУСТА 2019 Г. В Г. ПЕНЗА**

**ПЕНЗА
МЦНС «НАУКА И ПРОСВЕЩЕНИЕ»
2019**

УДК 001.1
ББК 60
НЗ4

Ответственный редактор:
Гуляев Герман Юрьевич, кандидат экономических наук

НЗ4

НАУКА И ИННОВАЦИИ В XXI ВЕКЕ: АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ, ОТКРЫТИЯ И ДОСТИЖЕНИЯ: сборник статей XIV Международной научно-практической конференции. – Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение». – 2019. – 142 с.

ISBN 978-5-00159-064-4

Настоящий сборник составлен по материалам XIV Международной научно-практической конференции **«НАУКА И ИННОВАЦИИ В XXI ВЕКЕ: АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ, ОТКРЫТИЯ И ДОСТИЖЕНИЯ»**, состоявшейся 25 августа 2019 г. в г. Пенза. В сборнике научных трудов рассматриваются современные проблемы науки и практики применения результатов научных исследований.

Сборник предназначен для научных работников, преподавателей, аспирантов, магистрантов, студентов с целью использования в научной работе и учебной деятельности.

Ответственность за аутентичность и точность цитат, имен, названий и иных сведений, а также за соблюдение законодательства об интеллектуальной собственности несут авторы публикуемых материалов.

Полные тексты статей в открытом доступе размещены в Научной электронной библиотеке **Elibrary.ru** в соответствии с Договором №1096-04/2016К от 26.04.2016 г.

УДК 001.1
ББК 60

© МЦНС «Наука и Просвещение» (ИП Гуляев Г.Ю.), 2019
© Коллектив авторов, 2019

ISBN 978-5-00159-064-4

СОДЕРЖАНИЕ

ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКИЕ НАУКИ	9
ОБ АБСОЛЮТНОСТИ ДВИЖЕНИЯ, ВРЕМЕНИ И ПРОСТРАНСТВА БЕЛЯЕВ ИГОРЬ АНАТОЛЬЕВИЧ.....	10
МЕТОДЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ ВЕНЦЕРОВА НАТАЛИЯ ВИКТОРАВНА, МИХИНА АЛЕНА ВЛАДИМИРОВНА, ТЫМЧУК ТАТЬЯНА МИХАЙЛОВНА	19
БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ	22
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НАНОКОНСТРУИРОВАННОГО АЗОТНОКИСЛОГО СЕРЕБРА В НА-КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЕ И ГЕЛЛАНОВОЙ КАМЕДИ НА ПРИМЕРЕ <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> КРОЛЕВЕЦ АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧ, СИРОТИН АЛЕКСАНДР АНДРЕЕВИЧ, ЛЯХОВЧЕНКО НИКИТА СЕРГЕЕВИЧ, СЕНЧЕНКОВ ВЛАДИСЛАВ ЮРЬЕВИЧ, МОЛДАВАНОВА АНАСТАСИЯ ЮРЬЕВНА, НЕЧАЕВА АНАСТАСИЯ ИГОРЕВНА.....	23
ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ И ВИДОВАЯ СТРУКТУРА СООБЩЕСТВА НАСЕКОМОЯДНЫХ В ЛЕСНОЙ ЗОНЕ НОВОСИБИРСКОГО АКАДЕМГОРОДКА ГОРИНА НАТАЛЬЯ ДМИТРИЕВНА, ПАНОВ ВИКТОР ВВСИЛЬЕВИЧ.....	32
ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ	37
ФОТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ПРИБОРЫ С ЗАРЯДОВОЙ СВЯЗЬЮ МАКАРКИН ДМИТРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ, ГОРШКОВА КСЕНИЯ ВЛАДИМИРОВНА, ФЕДОРИНИНА НАТАЛЬЯ АЛЕКСЕЕВНА	38
ОБЛУЧЕНИЕ МЕТАЛЛИЧЕСКИХ ОБОЛОЧЕЧНЫХ ВЗРЫВООПАСНЫХ ОБЪЕКТОВ ПРОФИЛИРОВАННЫМИ И НЕПРОФИЛИРОВАННЫМИ ИМПУЛЬСАМИ ИЗЛУЧЕНИЯ ВОЛОКОННОГО ЛАЗЕРА СОЛОХИН СЕРГЕЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ, ШИЛОВ ИГОРЬ ВЯЧЕСЛАВОВИЧ, ШЕПЕЛЕВ АЛЕКСАНДР ЕВГЕНЬЕВИЧ, СМЕТАНИН СЕРГЕЙ НИКОЛАЕВИЧ.....	41
УПРАВЛЕНИЕ РИСКАМИ В ОБЛАСТИ БЕЗОПАСНОСТИ ПОЛЕТОВ МАЙНАШЕВА СОФЬЯ ОЛЕГОВНА, ОГОРОДНИКОВА ЮЛИЯ ВЛАДИМИРОВНА	45
ПОТЕНЦИАЛ СОВРЕМЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ СТЕКЛОКРИСТАЛЛИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ СИТАЛЛОВ КРАСЮКОВ ЕГОР АНДРЕЕВИЧ	48
РАЗРАБОТКА БАЗЫ ДАННЫХ «ФИРМЫ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩЕЙ УСТАНОВКУ ТАХОГРАФОВ» СУХОВА АРИНА АНДРЕЕВНА	51
ТЕХНОЛОГИИ ОБРАБОТКИ ИНФОРМАЦИИ. ОБРАБОТКА ДАННЫХ СУХОВА АРИНА АНДРЕЕВНА	55

УДК 579.61:579.64

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НАНОКОНСТРУИРОВАННОГО АЗОТНОКИСЛОГО СЕРЕБРА В НА-КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЕ И ГЕЛЛАНОВОЙ КАМЕДИ НА ПРИМЕРЕ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

КРОЛЕВЕЦ АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧдок. хим. наук, профессор кафедры технологии продуктов питания
ЧОУ ВО «Региональный социальный институт»**СИРОТИН АЛЕКСАНДР АНДРЕЕВИЧ**

канд. биол. наук, профессор кафедры биотехнологии и микробиологии

ЛЯХОВЧЕНКО НИКИТА СЕРГЕЕВИЧ

магистрант второго курса кафедры биотехнологии и микробиологии

СЕНЧЕНКОВ ВЛАДИСЛАВ ЮРЬЕВИЧ

магистрант второго курса кафедры общей химии

МОЛДАВАНОВА АНАСТАСИЯ ЮРЬЕВНА

студентка

НЕЧАЕВА АНАСТАСИЯ ИГОРЕВНАмагистрант первого курса биотехнологии и микробиологии
ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет»

Аннотация: современные тенденции развития бактериальной резистентности к антибиотикам, приводящие к осложнениям в процессах борьбы с патогенами, актуализируют мероприятия разработки новых способов противодействия инфицирующим объектам. В статье описывается исследование антибактериальных свойств наноструктурированного азотнокислого серебра в натрий карбоксиметилцеллюлозе и геллановой камеди на примере грамположительной бактерии *Staphylococcus aureus* с целью определения потенциала такого вещества как противомикробного агента.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*, наноконструирование, геллановая камедь, диско-диффузный метод, натрий карбоксиметилцеллюлоза, антибактериальная активность, разностный метод статистики.

STUDY OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF NANO-CONSTRUCTED NITRIC ACID SILVER IN Na-CARBOXYMETHYL CELLULOSE AND GELLAN GUM ON THE EXAMPLE OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Krolevets Alexander Alexandrovich,

Sirotin Alexander Andreevich,
Lyakhovchenko Nikita Sergeevich,
Senchenkov Vladislav Yurievich,
Moldavanova Anastasia Yurievna,
Nechaeva Anastasia Igorevna

Abstract: current trends in the development of bacterial resistance to antibiotics, leading to complications in the fight against pathogens, actualize the development of new ways of counteracting infectious objects. The article describes the study of the antibacterial properties of nanostructured silver nitrate in natrium-carboxymethyl cellulose and gellan gum using the example of the gram-positive bacterium *Staphylococcus aureus* to determine the potential of such a substance as an antimicrobial agent.

Key words: *Staphylococcus aureus*, nanoconstruction, gellan gum, disco-diffusion method, sodium carboxymethyl cellulose, antibacterial activity, difference statistical method.

Объектами изучения антибактериальной активности наноструктурированного азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе и геллановой камеди была выбрана грамположительная бактерия *Staphylococcus aureus*. Выбор такого микроорганизма обусловлен тем, что заболевания им вызываемые – одна из важнейших проблем в мире. Такое позиционирование имеет несколько аргументов, среди которых и повышение резистентности возбудителя к антибиотикам [1]. Исходя из этого, возникает необходимость поиска и разработки новых способов борьбы с патогенными агентами. Среди таких способов – модификация молекул уже существующих веществ, обладающих антибиотическими свойствами, молекулярными методами, в том числе и создание наноконструкций, приводящее к повышению антибактериальных свойств структуры [2].

Известно, что серебро уничтожает многие болезнетворные бактерии, поэтому в медицине оно используется в лекарственных и антисептических препаратах, например, протаргол, колларгол, коллоидные формы серебра и т.д. Коллоидный раствор серебра характеризуется мелкодисперсностью частиц, которые покрыты слоем молекул (например, белка), препятствующих слипанию частиц, и способствует излечению гнойных поражений глаз. Примечательное свойство серебра относительно стафилококков заключается в том, что они не могут приспособиться к данному металлу в отличие от антибиотиков [3].

Модификации молекул азотнокислого серебра натрий карбоксиметилцеллюлозой и геллановой камедью в различных массовых соотношениях за счёт самоорганизации (рис.1.) характеризуется получением наноструктур типа «гость-хозяин», где нитрат серебра выступает в качестве ядра, а поверхностно-активное вещество играет роль носителя или оболочки. Такой молекулярный ансамбль обладает всеми характеристиками своих компонентов, но при этом отдельные из них могут варьировать, в том числе и антибактериальная активность за счёт изменения реакционной способности азотнокислого серебра в составе наноконструкции [4]. Целью данного исследования является изучение изменения антимикробных свойств азотнокислого серебра при наноконструировании с натрий карбоксиметилцеллюлозой и геллановой камедью.

Измерения размеров наноструктурированных нитритов серебра проводили на мультипараметрическом анализаторе наночастиц Nanosight LMO производства Nanosight Ltd (Великобритания) в конфигурации HS-BF (высококонтрастная видеокамера Andor Luca, полупроводниковый лазер с длиной волны 405 нм и мощностью 45 мВт). Прибор основан на методе анализа траекторий наночастиц (Nanoparticle Tracking Analysis, NTA), описанном в ASTM E2834 [7].

Оптимальным разведением частиц для исследования размера было выбрано 1: 100, и параметры прибора: Camera Level = 16, Detection Threshold = 10 (multi), Min Track Length: Auto, Min Expected Size: Auto, длительность единичного измерения 215s, использование шприцевого насоса (рис. 2.)

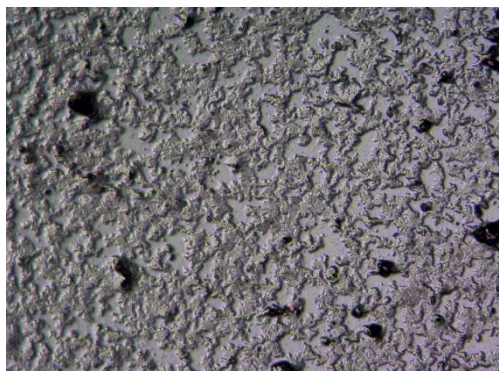


Рис. 1. Микрофотография азотнокислотного серебра в желатиновой камеди в соотношении ядро:оболочка 1:3 в концентрации 0,125% и увеличении X400

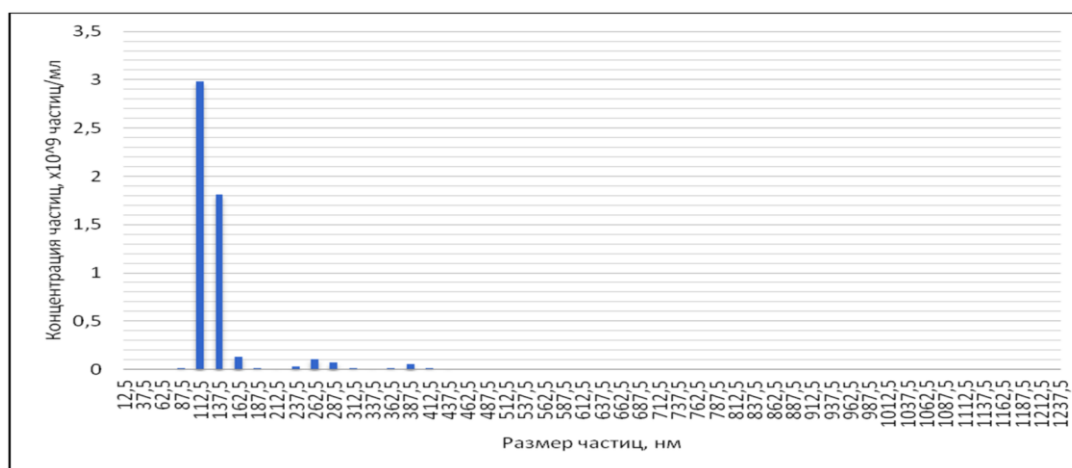


Рис. 2. Распределение частиц по размерам в образце нанокapsул нитрата серебра в желатиновой камеди (соотношение ядро:оболочка 1:3)

Таблица 1

Статистические характеристики распределений

Параметр	Значение
Средний размер, нм	133,5
D10, нм	79,3
D50, нм	97
D90, нм	124
Коэффициент полидисперсности, (D90-D10)/D50	0,46
Общая концентрация частиц, $\times 10^8$ частиц/мл	52,6

Исследование проводили диско-диффузным методом, который основан на способности исследуемого вещества диффундировать в питательную среду с пропитанного им бумажного диска [2]. Для этого готовили суспензию микробных клеток, равной 0,5 оптической плотности с использованием Microscan Turbidity Meter (производство Siemens). Далее производили посев газонем приготовленной суспензии (по 100 мкл) в подготовленные стерильные чашки Петри с 5 мл питательной среды ГМФ. Стерильные бумажные диски (диаметром 9 мм), пропитанные исследуемым образцом, размещали в засеянные чашки (по четыре диска на одну чашку Петри). Повторность – три чашки на каждый исследуемый образец вещества. Посевы инкубировались при 27°C в течение 24 часов. По радиусу зон ингибирования вокруг бумажных дисков судили о различиях в чувствительности *Staphylococcus aureus* к исследуемым образцам.

Для расчёта достоверности различия антибактериальной активности пользовались статистической обработкой усреднённых радиусов зон ингибирования разностным методом [5].

Таблица 2

Зоны ингибирования *Staphylococcus aureus* как показатель различия антибактериальной активности наноконструкций азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе и геллановой камеди

Соотношение	Натрий карбоксиметилцеллюлоза			Геллановая камедь			%
	Усреднённые радиусы зон ингибирования, \bar{X} (мм)	Ошибка среднего, Sd	Критерий Стьюдента, трасч.	Усреднённые радиусы зон ингибирования, \bar{X} (мм)	Ошибка среднего, Sd	Критерий Стьюдента, трасч.	
Чистый (1.1)	3,81			4,41			0,15
1:1 (2.1)	2,30	Sd _(1.1-2.1) = 0,21;	трасч. (1.1-2.1) = 7,095***;	3,69	Sd _(1.1-2.1) = 0,17;	трасч. (1.1-2.1) = 4,146***;	
1:2 (3.1)	1,13	Sd _(1.1-3.1) = 0,20;	трасч. (1.1-3.1) = 13,097***;	2,76	Sd _(1.1-3.1) = 0,21;	трасч. (1.1-3.1) = 7,785***;	
1:3 (4.1)	1,8	Sd _(1.1-4.1) = 0,19;	трасч. (1.1-4.1) = 10,536***;	-			
Чистый (1.2)	3,75			4,19			0,2
1:1 (2.2)	3,25	Sd _(1.2-2.2) = 0,11;	трасч. (1.2-2.2) = 4,448***;	3	Sd _(1.2-2.2) = 0,17;	трасч. (1.2-2.2) = 7,154***;	
1:2 (3.2)	2,34	Sd _(1.2-3.2) = 0,14;	трасч. (1.2-3.2) = 9,976***;	3,72	Sd _(1.2-3.2) = 0,18;	трасч. (1.2-3.2) = 2,677*;	
1:3 (4.2)	3,31	Sd _(1.2-4.2) = 0,12;	трасч. (1.2-4.2) = 3,472**;	3,22	Sd _(1.2-4.2) = 0,15;	трасч. (1.2-4.2) = 6,540***;	
Чистый (1.3)	4,04			4,24			0,25
1:1 (2.3)	3,37	Sd _(1.3-2.3) = 0,15;	трасч. (1.3-2.3) = 4,363***;	4,05	Sd _(1.3-2.3) = 0,15;	трасч. (1.3-2.3) = 1,231;	
1:2 (3.3)	2,97	Sd _(1.3-3.3) = 0,17;	трасч. (1.3-3.3) = 6,226***;	3,27	Sd _(1.3-3.3) = 0,14;	трасч. (1.3-3.3) = 7,081***;	
1:3 (4.3)	2,76	Sd _(1.3-4.3) = 0,2	трасч. (1.3-4.3) = 6,295***	2,96	Sd _(1.3-4.3) = 0,12	трасч. (1.3-4.3) = 10,011***	

Примечание:

* - различие статистически значимо при уровне $p \Rightarrow 0,05$;

** - различие статистически значимо при уровне $p \Rightarrow 0,01$;

*** - различие статистически значимо при уровне $p \Rightarrow 0,001$.

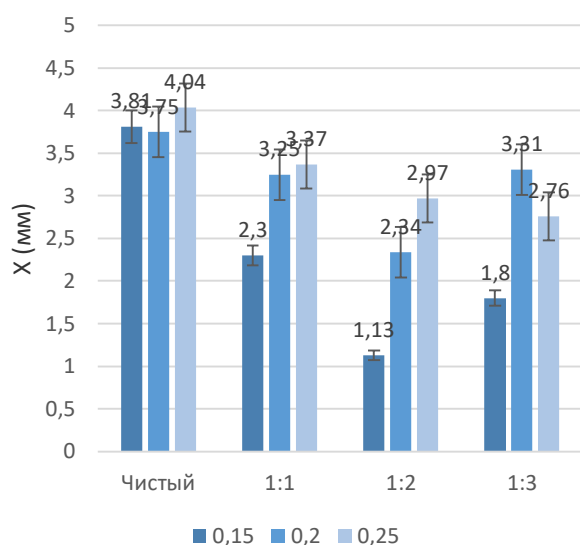


Рис. 3. Усреднённые зоны ингибирования роста *Staphylococcus aureus* как показатель различия антибактериальной активности наноконструкций азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе

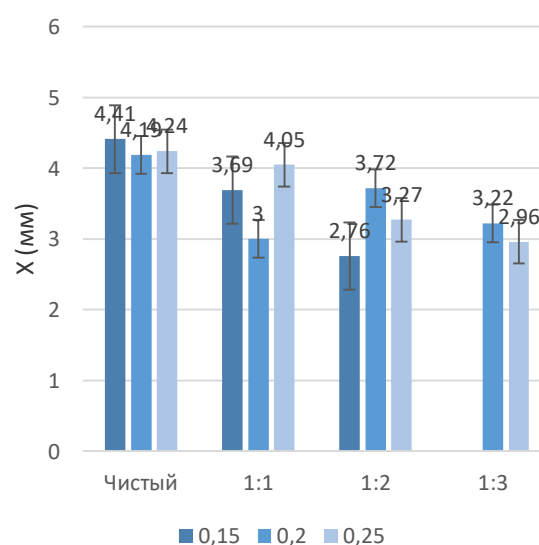


Рис. 4. Усреднённые зоны ингибирования роста *Staphylococcus aureus* как показатель различия антибактериальной активности наноконструкций азотнокислого серебра в желатиновой камеди

В ходе статистической обработки усреднённых зон подавления роста грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, представленных на рисунках 3 и 4, было выявлено, что антибактериальная активность наноконструкций азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:1 характеризуется статистически значимым различием относительно чистого вещества, так как оболочка снижает эффективность действующего вещества для всех процентных вариаций на 39,4% (для 0,15%-ных растворов), 13,3% (в случае 0,2%-ных растворов), и 16,6% (соответственно 0,25%-ным растворам), а расчётные критерии достоверности Стьюдента составили $t_{расч(1.1-2.1)}=7,095^{***}$, $t_{расч(1.2-2.2)}=4,448^{***}$, $t_{расч(1.3-2.3)}=4,363^{***}$, соответственно, что выше табличного значения при $p \Rightarrow 0,001$, а именно, $t_{st}=3.510$ (табл 2).

Статистический анализ различия усреднённых зон подавления роста бактерий *Staphylococcus aureus* (рис. 5–16) наноструктурированного азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:2 относительно чистого нитрата серебра показал, что статистически значимо различие антибактериальной активности для всех процентных вариаций раствора, так как, носитель действующего вещества снижает его эффективность на 70,3% (для 0,15%-ных растворов), 37,6% (в случае 0,2%-ных растворов) и 26,5% (для 0,25%-ных растворов), при расчётных критериях достоверности Стьюдента $t_{расч(1.1-3.1)}=13,097^{***}$, $t_{расч(1.2-3.2)}=9,976^{***}$, $t_{расч(1.3-3.3)}=6,226^{***}$, что выше табличного значения на уровне $p \Rightarrow 0,001$, а именно, $t_{st}=3.510$ (табл 2).

Вариации наноконструкций азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:3 характеризуется статистически значимым различием антибактериальной активности действующего вещества, где повышение доли носителя (Na-карбоксиметилцеллюлозы) снижает его эффективность на 52,7% (для 0,15%-ных растворов), 11,7% (для 0,2%-ных растворов) и 31,7% (для 0,25%-ных растворов). Критерии достоверности Стьюдента, представленные в таблице 2, составили $t_{расч(1.1-4.1)}=10,536^{***}$, $t_{расч(1.2-4.2)}=3,472^{**}$, $t_{расч(1.3-4.3)}=6,295^{***}$, что выше табличных значений при уровне $p \Rightarrow 0,001$ и $p \Rightarrow 0,01$, а именно $t_{st}=3.510$ и $t_{st}=2,685$.



Рис. 5. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,15%-ного раствора чистого азотнокислого серебра



Рис. 6. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,2%-ного раствора чистого азотнокислого серебра



Рис. 7. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,25%-ного раствора чистого азотнокислого серебра



Рис. 8. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,15%-ного раствора азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:1

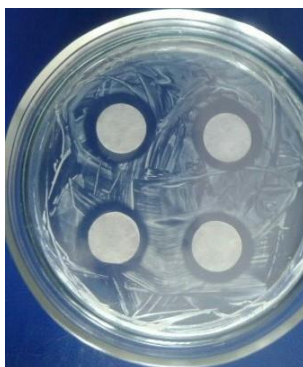


Рис. 9. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,2%-ного раствора азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:1



Рис. 10. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,25%-ного раствора азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:1



Рис. 11. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,15%-ного раствора азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:2



Рис. 12. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,2%-ного раствора азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:2

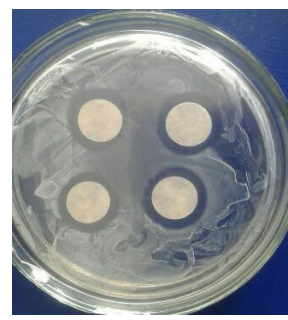


Рис. 13. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,25%-ного раствора азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:2



Рис. 14. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,15%-ного раствора азотно-кислого серебра в На-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:3



Рис. 15. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,2%-ного раствора азотно-кислого серебра в На-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:3



Рис. 16. Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,25%-ного раствора азотно-кислого серебра в На-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:3

В ходе статистической обработки усреднённых зон подавления роста грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, представленных на рисунках 5–16, было выявлено, что антибактериальная активность наноконструкций азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:1 характеризуется статистически значимым различием относительно чистого вещества, так как, наноконструирование снижает эффективность действующего вещества на 16,3% (для 0,15%-ных растворов), 28,4% (в случае 0,2%-ных растворов), а критерии достоверности Стьюдента расчётные составили $t_{расч(1.1-2.1)} = 7,095^{***}$, $t_{расч(1.2-2.2)} = 4,448^{***}$, $t_{расч(1.3-2.3)} = 4,363^{***}$, соответственно, что выше табличного значения при $p > 0,001$, а именно, $t_{st} = 3,510$ (табл 2). Однако, для 0,25%-ных растворов характерно статистически незначимое различие антибактериальной активности, где доля желатиновой камеди снижает эффективность действующего вещества на 4,5%, что является несущественным, так как, критерий достоверности Стьюдента составил $t_{расч(1.3-2.3)} = 1,231$, что ниже табличных значений (табл 2).

Статистический анализ различия усреднённых зон подавления роста бактерий *Staphylococcus aureus* (рис. 5–16) вариациями наноконструкций с соотношением «ядро-оболочка» 1:2 относительно чистого нитрата серебра показал, что статистически значимо различие антибактериальной активности для всех процентных содержаний в растворе, так как, носитель действующего вещества снижает его эффективность на 37,4% (для 0,15%-ных растворов), 11,2% (в случае 0,2%-ных растворов) и 22,8% (для 0,25%-ных растворов), при расчётных критериях достоверности Стьюдента $t_{расч(1.1-3.1)} = 7,785^{***}$, $t_{расч(1.2-3.2)} = 2,677^*$, $t_{расч(1.3-3.3)} = 7,081^{***}$, что выше табличного значения на уровне $p > 0,001$ и $p > 0,05$, а именно, $t_{st} = 3,510$ и $t_{st} = 2,012$ (табл (№)).

Вариации наноконструкций азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:3 характеризуется статистически значимым различием антибактериальной активности действующего вещества, где повышение доли носителя снижает его эффективность на 100% (для 0,15%-ных растворов), 23,1% (для 0,2%-ных растворов) и 30,2% (для 0,25%-ных растворов). Критерии достоверности Стьюдента, представленные в таблице 2, составили, $t_{расч(1.2-4.2)} = 6,540^{***}$, $t_{расч(1.3-4.3)} = 10,011^{***}$, что выше табличного значения при уровне $p > 0,001$, а именно $t_{st} = 3,510$.



Рис. (№). Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,15%-ного раствора чистого азотнокислого серебра



Рис. (№). Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,2%-ного раствора чистого азотнокислого серебра



Рис. (№). Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,25%-ного раствора чистого азотнокислого серебра



Рис. (№). Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,15%-ного раствора азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:1

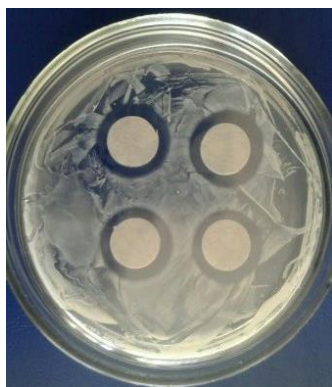


Рис. (№). Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,2%-ного раствора азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:1



Рис. (№). Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,25%-ного раствора азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:1



Рис. (№). Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,15%-ного раствора азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:2



Рис. (№). Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,2%-ного раствора азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:2



Рис. (№). Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,25%-ного раствора азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:2



Рис. (№). Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,15%-ного раствора азотно-кислого серебра в желлановой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:3



Рис. (№). Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,2%-ного раствора азотно-кислого серебра в желлановой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:3

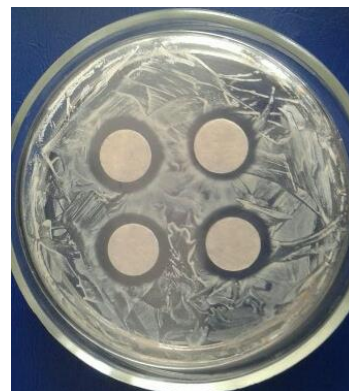


Рис. (№). Зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* 0,25%-ного раствора азотно-кислого серебра в желлановой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:3

Таким образом, исследование антибактериальной активности наноконструкций азотнокислого серебра в натрий карбоксиметилцеллюлозе и желлановой камеди на примере грамположительной бактерии *Staphylococcus aureus* диско-диффузным методом показало, что при наноконструировании эффективность действующего вещества снижается, однако, наноструктуры нитрата серебра в желлановой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:1 в 0,25%-ном растворе проявляют активность, различие которой со свойствами чистого вещества того же процентного соотношения в растворе статистически незначимо. Примечательно это, также потому, что наноконструкция содержит на 50% меньшую массовую долю азотнокислого серебра, в отличие от чистого.

Снижение антибактериальной активности при наноконструировании, предположительно, может быть связано со свойствами носителя действующего вещества. Так, молекулярный состав желлановой камеди (D-глюкоза-D-глюкуроновая кислота-D-рамноза в соотношении 2:1:1 [6]) может быть ближе к ферментным системам бактериального агента, обеспечивающих их метаболическую активность, чем производное целлюлозы (натрий карбоксиметилцеллюлоза), что может влиять на высвобождение действующего вещества в реакционную среду.

Список литературы

1. Грубер, И.М. Факторы патогенности *Staphylococcus aureus* – их роль в инфекционном процессе и в формировании поствакцинального иммунитета / И.М. Грубер, Е.А. Асташкина, Н.Б. Егорова // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2016. – №3 (88). – 54 с.
2. Сиротин, А.А. Наноструктурированные цефалоспориновые антибиотики: свойства и биологическая активность / А.А. Сиротин, А.А. Кролевец, М.Ф. Трифонова, В.В. Ключева, А.А. Горлова, Н.С. Савинова // Известия международной академии аграрного образования. – СПб: Известия международной академии аграрного образования. – 2017. – № 32. – С. 121-125.
3. Лопанов, А.Н. Серебро. Физико-химические свойства. Биологическая активность / Лопанов А.Н. – СПб.: Агат. – 2005. – 400 с.
4. Сидд, Дж. В. Супрамолекулярная химия. Пер. с англ.: в 2 т. / Джонатан В. Сидд, Джерри Л. Этвуд. – М.: ИКЦ «Академкнига». – 2007. – 156 с.
5. Основы научных исследований в агрономии / Моисейченко В.Ф., Трифонова М.Ф., Заверюха А.Х., Ещенко В.Е. — М.: Колос. – 1996. — 336 с:
6. Сарафанова, Л.А. Пищевые добавки: Энциклопедия. – 2-е изд., испр. и доп. / Сарафанова Л.А. – СПб: ГИОРД. – 2004. – 808 с.
7. Источник интернет-портал: <https://www.astm.org/Standards/E2834.htm>



CERTIFICATE



настоящим удостоверяется, что


Нечаева Анастасия Игоревна

Магистрант первого курса биотехнологии и микробиологии
ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет»

автор научной работы:

«ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НАНОКОНСТРУИРОВАННОГО
АЗОТНОКИСЛОГО СЕРЕБРА В НАТРИЙ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЕ И ГЕЛЛАНОВОЙ
КАМЕДИ НА ПРИМЕРЕ ГРАМПЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ STAPHYLOCOCCUS AUREUS»

принял(-а) участие в XIV Международной научно-практической конференции
«НАУКА И ИННОВАЦИИ В XXI ВЕКЕ: АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ, ОТКРЫТИЯ И ДОСТИЖЕНИЯ»



Директор МЦНС
«Наука и Просвещение»
к.э.н. Гуляев Г.Ю.



25 августа 2019 года,
Российская Федерация,
город Пенза



НАУКА и ПРОСВЕЩЕНИЕ
МЕЖДУНАРОДНЫЙ ЦЕНТР НАУЧНОГО СОТРУДНИЧЕСТВА

 НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ
БИБЛИОТЕКА
LIBRARY.RU



**МЕЖДУНАРОДНЫЙ ЦЕНТР НАУЧНОГО СОТРУДНИЧЕСТВА
«НАУКА И ПРОСВЕЩЕНИЕ»**



НАУКА и ПРОСВЕЩЕНИЕ
МЕЖДУНАРОДНЫЙ ЦЕНТР НАУЧНОГО СОТРУДНИЧЕСТВА

EUROPEAN SCIENTIFIC CONFERENCE

**СБОРНИК СТАТЕЙ XVII МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ,
СОСТОЯВШЕЙСЯ 7 НОЯБРЯ 2019 Г. В Г. ПЕНЗА**

**ПЕНЗА
МЦНС «НАУКА И ПРОСВЕЩЕНИЕ»
2019**

УДК 001.1
ББК 60
Е244

Ответственный редактор:
Гуляев Герман Юрьевич, кандидат экономических наук

Е244

European Scientific Conference: сборник статей XVII Международной научно-практической конференции. – Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение». – 2019. – 338 с.

ISBN 978-5-00159-125-2

Настоящий сборник составлен по материалам XVII Международной научно-практической конференции «**European Scientific Conference**», состоявшейся 7 ноября 2019 г. в г. Пенза. В сборнике научных трудов рассматриваются современные проблемы науки и практики применения результатов научных исследований.

Сборник предназначен для научных работников, преподавателей, аспирантов, магистрантов, студентов с целью использования в научной работе и учебной деятельности.

Ответственность за аутентичность и точность цитат, имен, названий и иных сведений, а также за соблюдение законодательства об интеллектуальной собственности несут авторы публикуемых материалов.

Полные тексты статей в открытом доступе размещены в Научной электронной библиотеке **Elibrary.ru** в соответствии с Договором №1096-04/2016К от 26.04.2016 г.

УДК 001.1
ББК 60

© МЦНС «Наука и Просвещение» (ИП Гуляев Г.Ю.), 2019
© Коллектив авторов, 2019

ISBN 978-5-00159-125-2

СОДЕРЖАНИЕ

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ	13
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКОЗНОЙ АКТИВНОСТИ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО АЗОТНОКИСЛОГО СЕРЕБРА В НА-КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЕ И ГЕЛЛАНОВОЙ КАМЕДИ НА ПРИМЕРЕ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ <i>ASPERGILLUS NIGER</i> КРОЛЕВЕЦ АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧ, ЛЯХОВЧЕНКО НИКИТА СЕРГЕЕВИЧ, СЕНЧЕНКОВ ВЛАДИСЛАВ ЮРЬЕВИЧ, НЕЧАЕВА АНАСТАСИЯ ИГОРЕВНА, КОНОНОВА МАРГАРИТА ИГОРЕВНА, МОЛДАВАНОВА АНАСТАСИЯ ЮРЬЕВНА	14
РОДО-ВИДОВОЙ АНАЛИЗ СЕМЕЙСТВА LAMIACEAE В РАЗНЫХ ЛОКУСАХ КАВКАЗСКОГО ЭКОРЕГИОНА УХОВА МАРИЯ ОЛЕГОВНА, ПЕЛИНА АЛИНА НИКОЛАЕВНА.....	23
ГЕОЛОГО-МИНЕРАЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ	26
СТРАТИГРАФИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИОПЛИОЦЕНОВОГО СТРУКТУРНОГО ЭТАЖА – СЕВЕРО –АБШЕРОНСКОГО СКЛАДЧАТОЙ ЗОНЫ АЗЕРБАЙДЖАНА ХАЛИФА-ЗАДЕ ЧИНГИЗ МУЗАФФАР, ГАМАШАЕВА-МУРАДОВА САБИНА ЯШАР	27
ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ	31
ПРОЦЕСС МОДЕЛИРОВАНИЕ КОНУСООБРАЗОВАНИЯ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ЗАЛЕЖЕЙ С ГАЗОВОЙ ШАПКОЙ ГОРИЗОНТАЛЬНЫМИ СКВАЖИНАМИ ЛЫСАЧКИН ДМИТРИЙ ОЛЕГОВИЧ, ШИЛКОВ КИРИЛЛ ДМИТРИЕВИЧ, ГОГИН АНДРЕЙ ЮРЬЕВИЧ, РОЖКОВ АРТУР ЕВГЕНЬЕВИЧ	32
АНАЛИЗ ПРИМЕНЕНИЯ ДВУСТОРОННИХ ЭЦН НА ТАРАСОВСКОМ МЕСТОРОЖДЕНИИ ЛЫСАЧКИН ДМИТРИЙ ОЛЕГОВИЧ, ШИЛКОВ КИРИЛЛ ДМИТРИЕВИЧ, ГОГИН АНДРЕЙ ЮРЬЕВИЧ, РОЖКОВ АРТУР ЕВГЕНЬЕВИЧ	36
ПОВЫШЕНИЕ НАРАБОТКИ НА ОТКАЗ ЭЦН НА ТЕВЛИНО-РУССКИНСКОМ МЕСТОРОЖДЕНИИ ЗЕНЧЕНКО ЕВГЕНИЙ ВИКТОРОВИЧ, ДАНЯРОВ АСЛАН АЗЕР ОГЛЫ, МАГАДЕЕВ РУСЛАН АСХАТОВИЧ, РОЖКОВ АРТУР ЕВГЕНЬЕВИЧ	40
ROLE OF DEVELOPED TECHNOLOGIES IN THE TRAINING OF ECONOMIC AND MANAGEMENT SPECIALISTS IN THE ICT SECTOR БЕГИМОВ ОЙБЕК МАМАРАСУЛОВИЧ, НЕМАТОВА РУХСОРА ҒАЙРАТЖОН ҚИЗИ, ЗАРПУЛЛАЙЕВ УРОЛБОЙ ХУДАЁР ЎҒЛИ	43
СОЗДАНИЕ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ ДЛЯ УДАЛЁННОГО УПРАВЛЕНИЯ КОМПЬЮТЕРАМИ В ЛОКАЛЬНОЙ СЕТИ ЛУШНИКОВ НИКИТА ДМИТРИЕВИЧ, АЛЬТЕРМАН АННА ДМИТРИЕВНА	46
ТЕХНОЛОГИЯ СВЕРХВЫСОКОЙ ЧЕТКОСТИ 4К ЛУШНИКОВ НИКИТА ДМИТРИЕВИЧ, АЛЬТЕРМАН АННА ДМИТРИЕВНА	49

УДК 579.61:579.64

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКОЗНОЙ АКТИВНОСТИ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОГО АЗОТНОКИСЛОГО СЕРЕБРА В НА-КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЕ И ГЕЛЛАНОВОЙ КАМЕДИ НА ПРИМЕРЕ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ *ASPERGILLUS NIGER*

КРОЛЕВЕЦ АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧ,

Доктор химических наук, профессор кафедры технологии продуктов питания
Заведующий лабораторией «Синтез микро- и наноструктур»
ЧОУ ВО «Региональный социальный институт»

ЛЯХОВЧЕНКО НИКИТА СЕРГЕЕВИЧ,

СЕНЧЕНКОВ ВЛАДИСЛАВ ЮРЬЕВИЧ,

НЕЧАЕВА АНАСТАСИЯ ИГОРЕВНА,

КОНОНОВА МАРГАРИТА ИГОРЕВНА,

Магистранты

ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет»

МОЛДАВАНОВА АНАСТАСИЯ ЮРЬЕВНА

Студентка

ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет»

Научный руководитель: Сиротин Александр Андреевич

канд. биол. наук, профессор

ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет»

Аннотация: в работе представлены результаты исследования по изучению антимикозной активности наноструктур азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе и геллановой камеди на примере плесневого гриба *Aspergillus niger*, в ходе которого выявлено, что модификация действующего вещества характеризуется уменьшением доли азотнокислого серебра в препарате, но при этом увеличивает его активность.

Ключевые слова: *Aspergillus niger*, наноконструирование, геллановая камедь, диско-диффузный метод, Na-карбоксиметилцеллюлоза, антибактериальная активность, разностный метод статистики.

THE STUDY OF ANTIMICOSIS ACTIVITY OF NANOSTRUCTURED NITRIC ACID SILVER IN Na-CARBOXYMETHYLCELLULOSE AND GELLAN GUM ON THE EXAMPLE OF *ASPERGILLUS NIGER*

Krolevets Alexander Alexandrovich
Lyakhovchenko Nikita Sergeevich,
Senchenkov Vladislav Yurievich,
Nechaeva Anastasia Igorevna
Moldavanova Anastasia Yurievna,
Kononova Margarita Igorevna

Scientific adviser: Sirotin Alexander Andreevich

Abstract: the paper presents the results of a study on the antimycotic activity of silver nitrate nanostructures in Na-carboxymethylcellulose and gellan gum by the example of *Aspergillus niger* mold, during which it was found that the modification of the active substance is characterized by a decrease in the proportion of silver nitrate in the preparation, but at the same time increases its activity.

Key words: *Aspergillus niger*, nanoconstruction, gellan gum, disco-diffuse method, Na-carboxymethylcellulose, antibacterial activity, difference statistical method.

Плесневые грибы *Aspergillus niger*, осуществляя процессы деградации органического субстрата, несут угрозу различным сферам жизнедеятельности человека, что усугубляется антропогенным воздействием, ведущим к увеличению спор в аэрозоле, например, агропромышленных комплексов [1]. Среди последствий контаминации организма – развитие аспергиллёзов. Они могут привести к значительным проблемам при производстве какой-либо животной продукции, так как поражают птиц, лошадей, рогатый скот, кроликов, свиней, овец, собак и других культурных животных. Кроме того, плесневые грибы рода *Aspergillus* вызывают аспергиллёзы пчёл, что наносит удар не только по пасечным предприятиям, но и процессам опыления различных культур растений [2]. Грибковые поражения различных полимерных материалов могут приводить к экономическим убыткам предприятий [3]. Таким образом, проявляется актуальная проблема в разработке легкодоступных средств подавления контаминации целевой продукций плесневыми грибами рода *Aspergillus niger*, распространённых повсеместно. При этом, средства контроля развития грибов должны обладать высокой эффективностью при минимальных концентрациях действующего вещества. В ранее описанной работе, наноконструкции азотнокисло-го серебра в желлановой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:1 в 0,25%-ном растворе проявляли антибактериальную активность, статистически незначимую относительно раствора чистого нитрата серебра той же концентрации, что объясняется 50%-ным содержанием действующего вещества в структурных агрегатах [4]. Исходя из этого, становится целесообразным исследовать антимикозные свойства азотнокисло-го серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе и желлановой камеди на других тест-объектах, среди которых и плесневые грибы группы *Aspergillus niger*.

Основные свойства наноструктур азотнокисло-го серебра приведены в ранней работе [4].

Изучение противогрибковых свойств проводили диско-диффузным методом [5]. Для этого готовили суспензию спор, равной 0,5 оптической плотности с использованием *Microscan Turbidity Meter* (производство *Siemens*). Далее производили посев газоном приготовленной суспензии (по 100 мкл) в подготовленные стерильные чашки Петри с 5 мл питательной среды Сабуро. Стерильные бумажные диски (диаметром 9 мм), пропитанные исследуемым образцом, размещали в засеянные чашки (три чашки по четыре диска). Посевы инкубировались при 27°C в течение 24 часов. По радиусу зон ингибирования вокруг бумажных дисков судили о чувствительности плесневого гриба к вариациям вещества.

Для расчёта достоверности различия антимикозной активности наноконструкций азотнокисло-го серебра в различных концентрациях с чистым пользовались статистической обработкой усреднённых радиусов зон ингибирования разностным методом [6].

Таблица 1

Зоны ингибирования *Aspergillus niger* как показатель антимикозной активности наноконструкций азотнокислого серебра в На-карбоксиметилцеллюлозе и желлановой камеди.

Соотношение	На-карбоксиметилцеллюлоза			Геллановая камедь			%
	Усреднённые радиусы зон ингибирования, X (мм)	Ошибка среднего, Sd	Критерий Стьюдента, трасч.	Усреднённые радиусы зон ингибирования, X (мм)	Ошибка среднего, Sd	Критерий Стьюдента, трасч.	
Чистый (1.1)	6,12	Sd _(1.1-2.1) = 0,37; Sd _(1.1-3.1) = 0,42; Sd _(1.1-4.1) = 0,39;	трасч. (1.1-2.1) = 0,113; трасч. (1.1-3.1) = 1,032; трасч. (1.1-4.1) = 6,055***;	5,15	Sd _(1.1-2.1) = 0,24; Sd _(1.1-3.1) = 0,18; Sd _(1.1-4.1) = 0,21;	трасч. (1.1-2.1) = 4,775***; трасч. (1.1-3.1) = 21,793***; трасч. (1.1-4.1) = 11,899***;	0,15
1:1 (2.1)	6,08			4,02			
1:2 (3.1)	5,69			1,15			
1:3 (4.1)	3,77			2,66			
Чистый (1.2)	7	Sd _(1.2-2.2) = 0,5; Sd _(1.2-3.2) = 0,46; Sd _(1.2-4.2) = 0,38;	трасч. (1.2-2.2) = 0,547; трасч. (1.2-3.2) = 1,144; трасч. (1.2-4.2) = 5,419**;	4,92	Sd _(1.2-2.2) = 0,19; Sd _(1.2-3.2) = 0,23; Sd _(1.2-4.2) = 0,22;	трасч. (1.2-2.2) = 1,677; трасч. (1.2-3.2) = 7,663***; трасч. (1.2-4.2) = 1,689;	0,2
1:1 (2.2)	7,27			4,6			
1:2 (3.2)	6,48			3,15			
1:3 (4.2)	4,94			4,54			
Чистый (1.3)	7,83	Sd _(1.3-2.3) = 0,46; Sd _(1.3-3.3) = 0,35; Sd _(1.3-4.3) = 0,32	трасч. (1.3-2.3) = 5,511***; трасч. (1.3-3.3) = 6,736***; трасч. (1.3-4.3) = 14,093***	5,42	Sd _(1.3-2.3) = 0,26; Sd _(1.3-3.3) = 0,18; Sd _(1.3-4.3) = 0,21	трасч. (1.3-2.3) = 0,978; трасч. (1.3-3.3) = 22,894***; трасч. (1.3-4.3) = 1,691	0,25
1:1 (2.3)	5,29			5,67			
1:2 (3.3)	5,5			1,27			
1:3 (4.3)	3,33			5,06			

Примечание:

* - различие статистически значимо при уровне $p \geq 0,05$;

** - различие статистически значимо при уровне $p \geq 0,01$;

*** - различие статистически значимо при уровне $p \geq 0,001$.

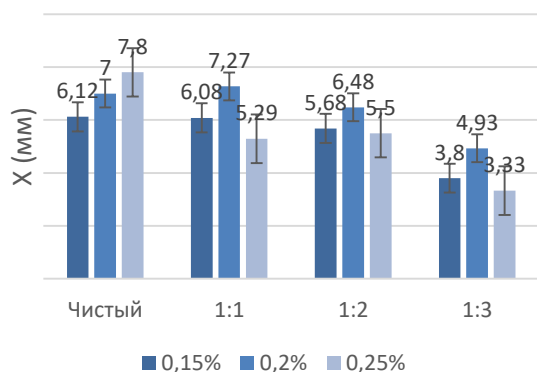


Рис. 1. Усреднённые зоны ингибирования роста *Aspergillus niger* как показатель антимикотической активности наноконструкций азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе

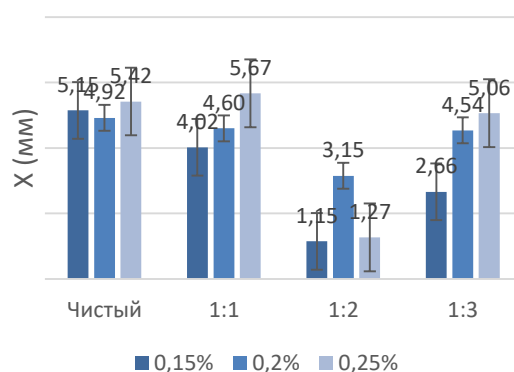


Рис. 2. Усреднённые зоны ингибирования роста *Aspergillus niger* как показатель антимикотической активности наноконструкций азотнокислого серебра в желатиновой камеди



Рис. 3. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,15%-ным раствором азотнокислого серебра



Рис. 4. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,2%-ным раствором азотнокислого серебра



Рис. 5. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,25%-ным раствором азотнокислого серебра



Рис. 6. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,15%-ным раствором азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:1

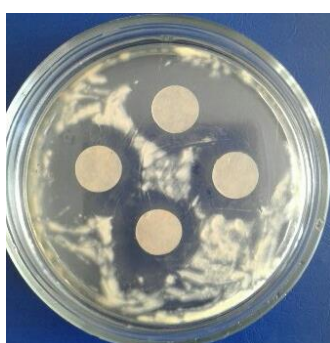


Рис. 7. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,2%-ным раствором азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:1



Рис. 8. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,25%-ным раствором азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:1

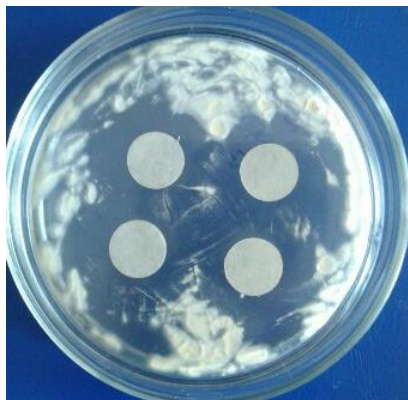


Рис. 9. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,15%-ным раствором азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:2



Рис. 10. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,2%-ным раствором азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:2



Рис. 11. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,25%-ным раствором азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:2



Рис. 12. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,15%-ным раствором азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:3

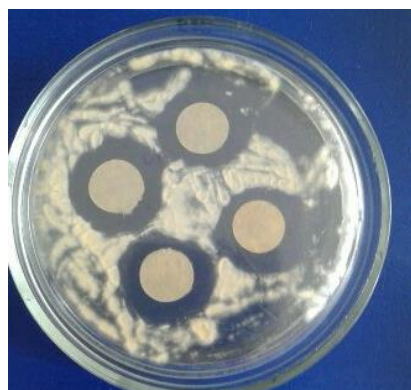


Рис. 13. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,2%-ным раствором азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:3

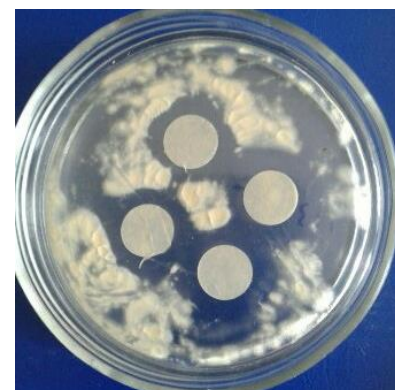


Рис. 14. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,25%-ным раствором азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением «ядро-оболочка» 1:3

В ходе статистического анализа усреднённых радиусов зон подавления роста плесневого гриба выявлено, что различие антимикозной активности, свойственной наноструктурам азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе с соотношением 1:3 (рис. 12-14), относительно чистого (в процентных концентрациях 0,15%, 0,2% и 0,25%), является статистически значимым, так как данные доли Na-карбоксиметилцеллюлозы снижают эффективность действующего вещества на 37,9%, 29,6% и 57,3%, соответственно (рис. 1), а расчётные критерии достоверности Стьюдента составили $t_{расч. (1.1-4.1)} = 6,055^{***}$, $t_{расч. (1.2-4.2)} = 5,419^{***}$, $t_{расч. (1.3-4.3)} = 14,093^{***}$ (таблица 1), что выше табличного значения при $p \leq 0,001^{***}$ ($t_{ст0,001} = 3,402$). При повышении процентного содержания исследуемых веществ до 0,25% в растворе, статистически значимое различие проявляется в случае сравнения антимикозной активности чистого азотнокислого серебра и наноструктурированного $AgNO_3$ -Na-КМЦ с весовым соотношением 1:1 и 1:2 (рис. 8 и 1), так как в данном случае носитель снижает эффективность действующего вещества на 37,9% - для 1:1, и на 29,6% - для 1:2 (рис. 1). При этом расчётные критерии достоверности Стьюдента составили $t_{расч. (1.3-2.3)} = 5,511^{***}$ и $t_{расч. (1.3-3.3)} = 6,736^{***}$ (таблица 1), что выше табличных при $p \leq 0,001^{***}$ ($t_{ст0,001} = 3,402$).

Антимикозная активность AgNO_3 -Na-КМЦ в других вариациях характеризуются статистически не значимым различием в эффективности относительно чистого азотнокислого серебра (рис.1). Такой вывод основан на том, что в ходе эксперимента модификация вещества Na-карбоксиметилцеллюлозой в весовых соотношениях 1:1 и 1:2 снижает его активность на 0,65% и 7,2% для 0,15%-ных растворов. Тогда как расчётные критерии достоверности Стьюдента составляют $t_{\text{расч. (1.1-2.1)}} = 0,113$ и $t_{\text{расч. (1.1-3.1)}} = 1,032$ (таблица 1), что ниже табличных значений. Для 0,2% растворов характерно статистически незначимое различие эффективности действующего вещества в наноструктуре с весовым соотношением 1:1 (рис. 7) относительно чистого азотнокислого серебра той же концентрации, так как доля Na-карбоксиметилцеллюлозы повышает активность на 3,8% (рис.1) при расчётном критерии достоверности Стьюдента, равному $t_{\text{расч. (1.2-2.2)}} = 0,547$, что ниже табличных значений, а именно, $t_{\text{ст0,05}} = 1,987$, $t_{\text{ст0,01}} = 2,632$, $t_{\text{ст0,001}} = 3,402$ (таблица 1). Эффективность наноструктур в тех же условиях, но с увеличением доли носителя до весового соотношения 1:2 (рис. 10), характеризуется снижением в сравнении с чистым азотнокислым серебром в 0,2% растворе на 7,43% (рис.1). Данное различие является статистически незначимым, так как, расчётный критерий достоверности Стьюдента составляет $t_{\text{расч. (1.2-3.2)}} = 1,144$ (таблица 1), что ниже табличных значений ($t_{\text{ст0,05}} = 1,987$, $t_{\text{ст0,01}} = 2,632$, $t_{\text{ст0,001}} = 3,402$).

На рисунке 1 заметно, что при повышении концентрации чистого азотнокислого серебра с 0,15% до 0,25% антимикозная активность возрастает соответственно, тогда как свойства наноструктур варьируют. Так, кроме вышеописанного, для 0,25% растворов весового соотношения 1:1 характерно снижение эффективности относительно чистого на 32,2%, а для той же концентрации структур с соотношением 1:2 – 29,5%. Описанные различия статистически значимы, так как расчётные критерии достоверности Стьюдента составляют $t_{\text{расч. (1.3-2.3)}} = 5,511^{***}$, $t_{\text{расч. (1.3-3.3)}} = 6,736^{***}$ (таблица 1), что выше табличного значения при $p \Rightarrow 0,001$ ($t_{\text{ст0,001}} = 3,402$).

При статистической обработке усреднённых зон подавления роста плесневого гриба выявлено, что антимикозная активность 0,15%-ных растворов наноструктур AgNO_3 -геллановая камедь в весовых соотношениях «действующее вещество:носитель» 1:1, 1:2 и 1:3 (рис. 15, 18, 21, 24) характеризуется статистически значимым различием относительно чистого азотнокислого серебра, так как геллановая камедь снижает эффективность на 22%, 77,7% и 48,3% (рис 1), тогда как расчётные критерии достоверности Стьюдента составляют $t_{\text{расч. (1.1-2.1)}} = 4,775^{***}$, $t_{\text{расч. (1.1-3.1)}} = 21,793^{***}$ и $t_{\text{расч. (1.1-4.1)}} = 11,899^{***}$ (таблица 1). Все полученные критерии превышают табличное значение на уровне $p \leq 0,001^{***}$ (а именно, $t_{\text{ст0,001}} = 3,402$), чем и подтверждается достоверность. При повышении концентрации вещества до 0,2% различие антимикозных свойств значимо в случае растворов с весовым соотношением 1:2 (рис.2), где доля геллановой камеди в структуре приводит к снижению активности азотнокислого серебра на 36% ($t_{\text{расч. (1.2-3.2)}} = 7,663^{***}$, что выше $t_{\text{ст0,001}} = 3,402$). Для AgNO_3 -геллановая камедь 1:1 и 1:3 характерно статистически незначимое различие антимикозной активности относительно контрольного чистого азотнокислого серебра, что обусловлено снижением носителем эффективности действующего вещества на 6,5% и 7,7% (рис.2), а расчётные критерии достоверности Стьюдента составили $t_{\text{расч. (1.2-2.2)}} = 1,677$, $t_{\text{расч. (1.2-4.2)}} = 1,689$ (таблица 1), что ниже табличных значений ($t_{\text{ст0,05}} = 1,987$, $t_{\text{ст0,01}} = 2,632$, $t_{\text{ст0,001}} = 3,402$). Образцы в 0,25%-ных растворах проявляют статистически незначимое различие эффективности относительно чистого вещества в случае весовых соотношений 1:1 и 1:3 (рис. 17, 20, 26), так как, наноструктурирование повышает активность AgNO_3 -геллановая камедь 1:1 на 5 % и снижает её для AgNO_3 -геллановая камедь 1:3 на 6 % (рис. 2), а расчётные критерии достоверности Стьюдента составили $t_{\text{расч. (1.3-2.3)}} = 0,978$ и $t_{\text{расч. (1.3-4.3)}} = 1,691$ (таблица 1), что ниже табличных значений ($t_{\text{ст0,05}} = 1,987$, $t_{\text{ст0,01}} = 2,632$, $t_{\text{ст0,001}} = 3,402$).

Таким образом, в ходе исследования антимикозной активности наноструктур азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе и геллановой камеди на примере плесневого гриба *Aspergillus niger* выявлено, что при наноконструировании эффективность действующего вещества варьирует. В основном, сравнение с активностью чистого вещества показало статистически незначимое различие как для вариантов с Na-карбоксиметилцеллюлозой, так и для вариантов с геллановой камедью. Снижение антимикозных свойств, предположительно, может быть связано со свойствами носителей – полимеров, которые могут образовывать конгломераты, увеличивая, тем самым, размеры частиц в растворе. Такая коацервация может приводить к замедлению диффузии действующих веществ в среду.



Рис. 15. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,15%-ным раствором азотнокислого серебра



Рис. 16. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,2%-ным раствором азотнокислого серебра



Рис. 17. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,25%-ным раствором азотнокислого серебра



Рис. 18. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,15%-ным раствором азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:1



Рис. 19. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,2%-ным раствором азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:1



Рис. 20. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,25%-ным раствором азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:1



Рис. 21. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,15%-ным раствором азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:2



Рис. 22. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,2%-ным раствором азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:2



Рис. 23. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,25%-ным раствором азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:3

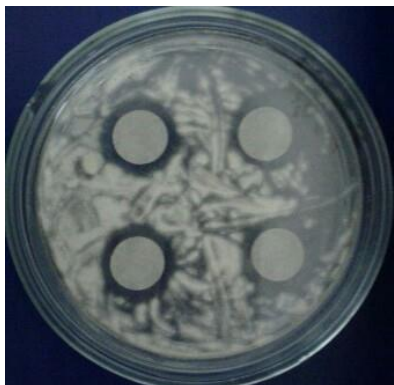


Рис. 24. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,15%-ным раствором азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:3

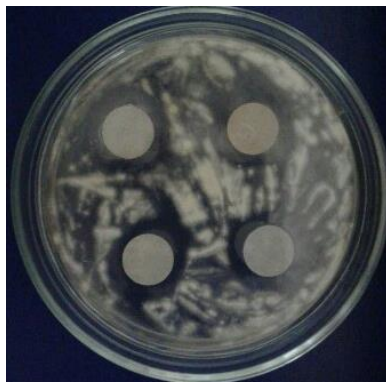


Рис. 25. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,2%-ным раствором азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:3

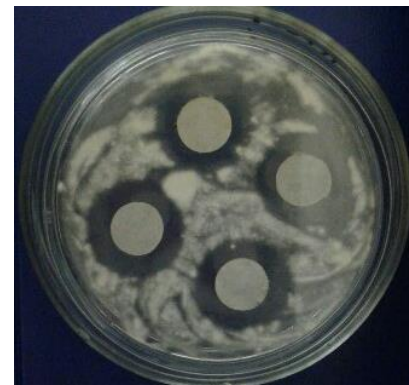


Рис. 26. Зоны подавления роста *Aspergillus niger* 0,25%-ным раствором азотнокислого серебра в желатиновой камеди с соотношением «ядро-оболочка» 1:3

Следует отметить, что варианты, характеризующиеся статистически незначимым снижением или повышением антимикозной активности, содержат в себе в несколько раз меньшую долю действующего вещества относительно чистого азотнокислого серебра. Так, при весовом соотношении «ядро:оболочка» $\text{AgNO}_3\text{-Na-KMЦ}$ 1:1 доля действующего вещества в структуре составляет 57%, в случае $\text{AgNO}_3\text{-Na-KMЦ}$ 1:2 – 40%, а для $\text{AgNO}_3\text{-Na-KMЦ}$ 1:3 – 30%, а при тех же весовых соотношениях, но с желатиновой камедью, доля действующего вещества 45,3% (для 1:1), 32% (для 1:2), 32% (для 1:3). Исходя из этого, очевидно, что для повышения эффективности действующего вещества имеют значение свойства носителя. В общем при одинаковых процентных концентрациях, сравниваемые образцы, не смотря на снижение доли действующего вещества, характеризуются близкими по эффективности свойствами.

Кроме того, может иметь значение доступность носителя как субстрата для тест-объекта. Так как носители являются полисахаридами или их производными (Na-карбоксиметилцеллюлоза), они могут выступать в качестве субстрата для грибов и интенсивнее расщепляются те, которые являются энергетически выгодными [1].

Список литературы

1. Билай В.И., Коваль Э.З. Аспергиллы – Киев : Наук. думка 1988. – 204 с.
2. Сиротин А.А., Кролевец А.А., Ключева В.В., Наноструктурированные цефалоспориновые антибиотики: свойства и биологическая активность // Известия Международной академии аграрного образования. 2017. №32. С. 121-125.
3. И.М. Грубер, Е.А. Асташкина, Н.Б. Егорова Факторы патогенности *Staphylococcus aureus* – их роль в инфекционном процессе и в формировании поствакцинального иммунитета. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика №3 (88)/2016.
4. Бородина Т.Н., Румш Л.Д., Кунижев С.М., Сухоруков Г.Б., Ворожцов Г.Н., Фельдман Б.М., Марквичева Е.А. Полиэлектrolитные микрокапсулы как системы доставки биологически активных веществ // Биомедицинская химия. Том: 53, № 5 2007 С.557-565.
5. Tyrsin Yu.A., Krolevets A.A., Edelev D.A., Bykovskay E.E.. Nano and micro capsulation of cephalosporin antibiotics / World Appltd Sciences Journal, 2014, v.30, N 11, p.1636-1641.
6. Сиротин А.А. Исследование антибактериальной активности наноконструированного азотнокислого серебра в Na-карбоксиметилцеллюлозе и желатиновой камеди на примере *Staphylococcus aureus* / А.А. Кролевец, А.А. Сиротин, Н.С. Ляховченко, В.Ю. Сенченков, А.Ю. Молдаванова, А.И. Нечаева // НАУКА И ИННОВАЦИИ В XXI ВЕКЕ: АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ, ОТКРЫТИЯ И ДОСТИЖЕНИЯ: сборник

статей XIV Международной научно-практической конференции. – Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение». – 2019. – 142 с.

7. Интернет-портал: <https://www.astm.org/Standards/E2834.htm>

8. Основы научных исследований в агрономии /В.Ф. Моисейченко, М.Ф. Трифонова, А.Х. Заверюха, В.Е. Ещенко. — М.: Колос, 1996. — 336 с: ил. — (Учебники и учеб. пособия для студентов высш. учеб. заведений).



Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«БЕЛГОРОДСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ АГРАРНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»**

ИННОВАЦИОННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В ХИМИЗАЦИИ ЗЕМЛЕДЕЛИЯ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА

Материалы Всероссийской научно-практической конференции
с международным участием
и Всероссийской Школы молодых учёных,
19-21 июня 2019 г.

Белгород 2019

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Белгородский федеральный аграрный научный центр
Российской академии наук»

**ИННОВАЦИОННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ
В ХИМИЗАЦИИ ЗЕМЛЕДЕЛИЯ
И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА**

Материалы
Всероссийской научно-практической конференции
с международным участием
и Всероссийской Школы молодых ученых

19–21 июня 2019 г.

Белгород
2019

УДК 631.8(063)
ББК 40.4я431
И 665

Редакционная коллегия:

С.И. Тютюнов, д.с.-х.н. – главный редактор; Л.Г. Смирнова, д.б.н., профессор – заместитель редактора; А.Н. Воронин, д.с.-х.н. – заместитель редактора; В.А. Багиров, д.б.н.; Ю.Ф. Лачуга, д.т.н., профессор; А.А. Завалин, академик РАН, д.с.-х.н., профессор; В.Г. Сычев, академик РАН, д.с.-х.н., профессор; В.А. Романенков, д.б.н., профессор; С.Н. Алейник, заместитель Губернатора области – начальник департамента АПК и воспроизводства окружающей среды Белгородской области; О.А. Павлова – заместитель Губернатора Белгородской области; О.Н. Полухин, д.полит.н., профессор; А.В. Турьянский, д.э.н., профессор; С.Н. Глаголев, д.э.н., профессор; А.А. Бучек – начальник управления профессиональным образованием и науки департамента внутренней и кадровой политики Белгородской области; П.И. Солнцев, к.с.-х.н.; В.П. Нецветаев, д.б.н., профессор; В.Д. Соловichenko, д.с.-х.н.; В.В. Навальнев, к.с.-х.н.; Л.Н. Придачина, к.с.-х.н.; Г.Н. Шальнева; В.Н. Баранов; С.А. Хорошилов, к.б.н.; И.И. Михайленко, к.б.н.; Л.С. Бондаренко, к.б.н.; Ю.В. Хорошилова, к.б.н.; Е.В. Навольнева, к.с.-х.н.

Печатается по решению Ученого совета
ФГБНУ «Белгородский ФАНЦ РАН»
(Протокол № 4 от 18 апреля 2019 г.)

Адрес: Россия, 308001, г. Белгород, ул. Октябрьская, 58,
ФГБНУ «Белгородский ФАНЦ РАН»

За достоверность представленных в сборнике сведений
несут ответственность авторы соответствующих материалов

И 665 Инновационные направления в химизации земледелия и сельскохозяйственного производства: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием и Всероссийской Школы молодых ученых, 19–21 июня 2019 г. / [редкол.: С.И. Тютюнов (гл. ред.), Л.Г. Смирнова, А.Н. Воронин и др.]. – Белгород: ООО «Принт», 2019. – 726 с.: ил.

В сборнике представлены результаты исследований отечественных и зарубежных специалистов в теоретической и практической областях химизации земледелия, агрохимии и сельскохозяйственного производства, рассмотрены агроэкологические и экономические аспекты применения средств химизации, современные направления развития адаптивно-ландшафтных систем земледелия, пути сохранения и воспроизводства почвенного плодородия, проблемы селекции и семеноводства для современных агротехнологий, актуальные вопросы кормопроизводства.

Для научных работников и специалистов сельского хозяйства.

УДК 631.8(063)
ББК 40.4я431

ISBN 978-5-9631-0736-2
DOI 10.25809/PRNT.2522



9 785963 107362

© ФГБНУ «Белгородский ФАНЦ РАН», 2019
© Издательство «Принт», 2019

**АНАЛИЗ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ
БАКТЕРИАЛЬНОГО СООБЩЕСТВА ЧЕРНОЗЕМА
МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ
В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ**

**ANALYSIS OF TAXONOMIC STRUCTURE
OF BACTERIAL COMMUNITY OF BLACK SOIL
BY THE METHOD OF REAL TIME POLYMERASE
CHAIN REACTION**

А.И. Нечаева, К.С. Бояршин, В.В. Клюева, И.В. Батлуцкая
A.I. Nechayeva, K.S. Boyarshin, V.V. Klyueva, I.V. Batlutskaya

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный
исследовательский университет», Белгород
FSAEI HE «Belgorod State National Research University», Belgorod
E-mail: nechayeva@list.ru

Аннотация. Методом ПЦР РВ с использованием набора таксон-специфических праймеров проведен анализ таксономической структуры бактериальной компоненты почвенного микробного сообщества на примере приповерхностного слоя пахотного чернозема, обогащенного регулярным внесением органических удобрений. Определены процентные доли типов Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Verrucomicrobia и класса Gammaproteobacteria в составе бактериальной компоненты сообщества.

Abstract. In the sample of the surface layer of arable black soil enriched by regular fertilization by organic fertilizers taxonomic structure of the bacterial component of the soil microbial community was analyzed by RT PCR method using a set of taxon-specific primers. The percentages of phyla Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Verrucomicrobia and of class Gammaproteobacteria in the bacterial part of community were determined.

Ключевые слова: почвы, чернозем, микробиом, ПЦР РВ.

Keywords: soils, black soil, microbiome, RT PCR.

ВВЕДЕНИЕ

Важнейшим фактором в обеспечении плодородия почв являются функционирующие в них микробные сообщества. В число их функций входит разложение сложных органических веществ, фиксация атмосферного азота,

перевод фосфатов в растворимую форму, выработка биоактивных веществ, подавление фитопатогенных организмов. Их анализ важен для определения функционального состояния почвы, перспектив ее сельскохозяйственного использования и перечня мер, необходимых для повышения ее плодородия.

В число методов, применяемых для анализа почвенной микрофлоры, входит культивирование микроорганизмов на дифференциальных средах, таксон-специфическая ПЦР в реальном времени (ПЦР РВ), метагеномное секвенирование эволюционно консервативных последовательностей, транскриптомные, протеомные и иные методы. К сильным сторонам таксон-специфической ПЦР РВ относятся скорость и относительно невысокая стоимость проведения анализа, простота пробоподготовки, обработки и интерпретации результатов. Это делает метод пригодным для рутинного анализа почвенных сообществ и сопоставления полученных результатов с ожидаемыми показателями.

В данном исследовании был проведен таксономический анализ микрофлоры чернозема, обогащенного регулярным внесением органических удобрений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Почвенные пробы были отобраны на приусадебном участке с глубины около 5 см вскоре после оттаивания в марте и выдерживались в течение трёх недель при комнатной температуре в условиях обильного увлажнения для активизации микробиоты. Суммарная ДНК микробного сообщества была выделена из образца почвы массой 150 мг с использованием набора *diaGene* фирмы «Диа-М».

Для проведения исследования был использован набор таксон-специфических праймеров [1], включающий пары, специфичные к 6 типам и одному классу бактерий, а также в целом к домену *Bacteria* (табл. 1).

Таблица 1. Последовательности таксон-специфических праймеров, примененных в исследовании

Таксон	Обозначение	Последовательность	Длина ампликона, пн	tm, °C
Bacteroidetes	Bac960F	GTTTAATTTCGATGATACGCGAG	122	60
	Bac1100R	TTAASCCGACACCTCACGG		
Firmicutes	Firm934F	GGAGYATGTGGTTTAATTCGAAGCA	126	60
	Firm1060R	AGCTGACGACAACCATGCAC		

Actinobacteria	Act664F	TGTAGCGGTGGAATGCGC	277	60
	Act941R	AATTAAGCCACATGCTCCGCT		
Deferribacteres	Defer1115F	CTATTTCCAGTTGCTAACGG	150	60
	Defer1265R	GAGHTGCTTCCCTCTGATTATG		
Verrucomicrobia	Ver1165F	TCAKGTCAGTATGGCCCTTAT	97	60
	Ver1263R	CAGTTTTYAGGATTTCTCCGCC		
Tenericutes	Ten662F	ATGTGTAGCGGTAATAATGCGTAA	200	60
	Ten862R	CMTACTTGCGTACGTACTACT		
Gammaproteobacteria	Gamma877F	GCTAACGCATTAAGTRYCCCG	189	60
	Gamma1066R	GCCATGCRGCACCTGTCT		
Bacteria	926F	AAACTCAAAGKAATTGACGG	136	60
	1062R	CTCACRRCACGAGCTGAC		

Для проведения ПЦР РВ использовали реактивы ЗАО «Синтол» (ЗАО «Синтол», #М-427). Реакции велись с использованием рекомбинантной ДНК-полимеразы *SynTaq* при pH 8,8, в присутствии 2,5 мМ $MgCl_2$, с детекцией продукта по флуоресценции красителя SYBR Green I. Смеси объемом по 25 мкл содержали по 10 мкл 2,5-кратной реакционной смеси, по 7,5 мкл растворов праймеров, добавляемых до конечной концентрации 0,33 пмоль/мкл каждого, и по 7,5 мкл препарата ДНК-матрицы, добавляемой до конечной концентрации 25 и 2,5 пг/мкл. Оба разведения ДНК-матрицы брали в трех повторностях.

Реакцию проводили в термоциклере для ПЦР РВ CFX96 Touch фирмы «Bio-Rad». Программа содержала этап плавления ДНК и активации ДНК-полимеразы при температуре 96 °С продолжительностью 5 мин. За ним следовали 40 циклов амплификации, включавшие по три этапа продолжительностью 20 сек: плавление при 96 °С, отжиг праймеров при 60 °С и элонгацию растущей цепи при 72 °С.

Определение процентной доли таксонов в бактериальной компоненте сообщества проводили по формуле [2]:

$$X = \frac{A_{(Bac)}^{Cq(Bac)}}{A_{(X)}^{Cq(X)}} \times 100 \%$$

где X – процентная доля ДНК определённого таксона бактерий среди всей бактериальной ДНК, A – факторы амплификации для универсальной

пары праймеров (*Bac*) и пары праймеров, специфичной к ДНК данного таксона (*X*), *Cq* – число циклов амплификации, необходимое для достижения порогового значения, установленного программным обеспечением термоциклера в том и другом случае.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно полученным данным, в исследованном образце доминировали типы *Firmicutes* и *Bacteroidetes* (рис. 1). Тип *Actinobacteria* и класс *Gamma*proteobacteria, относящийся к типу *Proteobacteria*, были представлены в меньшем количестве, а тип *Verrucomicrobia* в незначительном количестве. Типы *Defferibacteres* и *Tenericutes* детектированы не были.

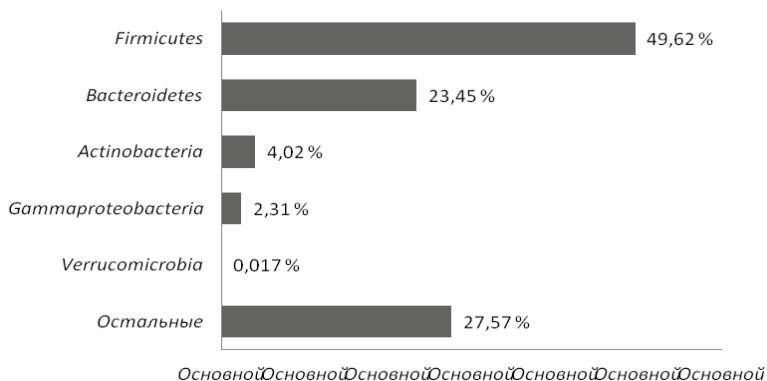


Рисунок 1. Процентные доли типов *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* и класса *Gammaproteobacteria* в образце чернозёма

Выбор таксон-специфических пар праймеров для анализа основывался на литературных данных, указывающих на наличие выбранных таксонов в микрофлоре почв [3, 4]. Значительная доля бактерий, относящихся к типам *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и класса *Gammaproteobacteria* согласуется с данными, представленными в этих источниках. Высокий процент представителей типа *Firmicutes* может быть связан с внесением органических удобрений, так как микроорганизмы, относящиеся к этому таксону, доминируют в навозе сельскохозяйственных животных [5].

ЛИТЕРАТУРА

1. Yun-Wen Yang Use of 16S rRNA Gene-Targeted Group-Specific Primers for Real-Time PCR Analysis of Predominant Bacteria in Mouse Feces / Yun-Wen

Yang, Mang-Kun Chen, Bing-Ya Yang, Xian-Jie Huang, Xue-Rui Zhang, Liang-Qiang He, Jing Zhang, Zi-Chun Hua // Applied and Environmental Microbiology, 2015 – Volume 81 – № 19.

2. Bacchetti De Gregoris T. Improvement of phylum- and class-specific primers for real-time PCR quantification of bacterial taxa. / Bacchetti De Gregoris T, Aldred N, Clare AS, Burgess JG. // Microbiol Methods, 2011 86:351–356. [Электронный ресурс] – <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2011.06.010>.

3. Iratxe Zarraonaindia. The Soil Microbiome Influences Grapevine-Associated Microbiota / Iratxe Zarraonaindia,a,b Sarah M. Owens,a,c Pamela Weisenhorn,c Kristin West,d Jarrad Hampton-Marcell,a,e Simon Lax,e Nicholas A. Bokulich,f David A. Mills,f Gilles Martin,g Safiyh Taghavi,d Daniel van der Lelie,d Jack A. Gilbert // mBio, 2015 – Volume 6 – Issue 2 e02527–14.

4. Yongkyu Kim. Differential Assemblage of Functional Units in Paddy Soil Microbiomes / Yongkyu Kim, Werner Liesack // PLOS ONE, 2015 [Электронный ресурс] – <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0122221>.

5. Michelle M. O’Donnell Core fecal microbiota of domesticated herbivorous ruminant, hindgut fermenters, and monogastric animals / Hugh M.B. Harris, R. Paul Ross, Paul W. O’Toole // MicrobiologyOpen, 2017 6:e509. [Электронный ресурс] – <https://doi.org/10.1002/mbo3.509>.

УДК 631.41

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОГО СОСТОЯНИЯ ЧЕРНОЗЕМОВ ВЫЩЕЛОЧЕННЫХ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ СМЫТОСТИ

FEATURES OF THE STRUCTURAL STATE OF LEACHED CHERNOZEM OF DIFFERENT DEGREES OF WASHOUT

В.И. Нусс, Я.Е. Андрусевич, А.И. Громовик
V.I. Nuss, Y.E. Andrusевич, A.I. Gromovik

ФГБОУ «ВГУ», Воронеж
«Voronezh State University», Voronezh
E-mail: nussnuss96@mail.ru
E-mail:X-force-x2009@yandex.ru
E-mail:agrom.ps@mail.ru

***Аннотация.** В данной статье представлены результаты исследования изменения содержания гумуса и структурного состояния в черноземах выщелоченных разной степени смывости.*

Зависимость обменной кислотности и содержания гумуса в черноземе типичном от минеральных удобрений и предшественников озимой пшеницы (<i>Аль Духахабави Хайдер Халаф, С.И. Смуров, А.Г. Ступаков</i>)	606
Влагосбережение в технологии без обработки почвы при возделывании озимой пшеницы на черноземе обыкновенном Центрального Предкавказья (<i>А.А. Воронаева</i>)	610
Оценка нового исходного материала для селекции гибридов кукурузы в условиях Белгородской области (<i>Е.И. Деревлев</i>)	617
Испытание перспективных гибридов кукурузы под влиянием различных экологических факторов (<i>М.И. Евдокименкова</i>)	622
Влияние различных сочетаний элементов технологии возделывания на сахаристость корнеплодов сахарной свеклы (<i>М.В. Емец, А.А. Иваськова, П.И. Солнцев</i>)	626
Оценка показателей качества пшеницы в зависимости от погодных условий (<i>Я.О. Козелец, А.П. Ащеулова, О.В. Акиншина</i>)	631
Способы устранения негативного влияния свежего органического вещества на почву (<i>Н.А. Константинова</i>)	635
Содержание каротиноидов в зерне самоопыленных линий кукурузы (<i>П.С. Лавриненко, С.А. Хорошилов</i>)	639
Содержание калия в черноземах при различных системах обработки почв (<i>А.Ю. Маляр</i>)	642
Результаты экспериментов по стимулированию зарастания и формирования почвенного покрова на техногенных меловых отвалах в с. Безлюдовка Белгородской области (<i>А.А. Мануйлов</i>)	648
Влияние удобрений и способов обработки почвы на водно-физические свойства черноземов (<i>А.В. Мелова</i>)	655
Влияние форм мезорельефа на содержание макроэлементов в зерне озимой пшеницы (<i>И.И. Михайленко, А.А. Кувшинова, Д.В. Стремюсов, Ф. Ндихокубвайо</i>)	661
Пространственные и временные вариации динамики запасов продуктивной влаги в почве (<i>И.И. Михайленко, А.И. Литвинов, В.В. Жильцов</i>)	666
Зависимость агрофизических свойств чернозема типичного от агротехнических приемов (<i>Е.В. Навольнева, К.В. Дорохин</i>)	671
Анализ таксономической структуры бактериального сообщества чернозема методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (<i>А.И. Нечаева, К.С. Бояришин, В.В. Клюева, И.В. Батлуцкая</i>)	677
Особенности структурного состояния черноземов выщелоченных разной степени смывтости (<i>В.И. Нусс, Я.Е. Андрусевич, А.И. Громовик</i>)	681
Влияние удобрений на урожайность кукурузы на силос (<i>А.С. Поименов, С.Д. Лицуков</i>)	685
Применение минеральных и модифицированных удобрений при возделывании овса в Среднем Поволжье (<i>Г.В. Сайдяшева</i>)	689
Роль микробной деструкции растительных остатков в воспроизводстве плодородия почв (<i>С.А. Тарасов</i>)	694
Обработка почвенных данных в R: обзор пакетов (<i>П.А. Украинский</i>)	700

ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН
Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических
исследований Российской академии наук»
Совет молодых ученых и специалистов ИТЭБ РАН
ФГБУН Институт белка РАН



СБОРНИК ТЕЗИСОВ

**23-ой Международной Пушкинской школы-конференции
молодых ученых
«БИОЛОГИЯ - НАУКА XXI ВЕКА»**

15-19 апреля 2019, г. Пушкино



УДК 57.08; 573.4; 574.24; 574.6; 577.1; 577.2; 577.3; 578,5; 579,6; 581.1; 591.1; 631.4
БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА: 23-я Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых. 15 - 19 апреля 2019 г., Пущино. Сборник тезисов, 2019. – 433 с.

Международная Пушинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века» - научное мероприятие, проводимое для ознакомления молодых исследователей с перспективами и новейшими достижениями в различных областях биологии и смежных дисциплинах.

Работа школы-конференции проводится в следующих секциях:

- Микробиология и вирусология
- Биофизика и биоинформатика
- Молекулярная биология
- Биохимия
- Почвоведение и агроэкология
- Биотехнология и приборостроение
- Физиология животных и биомедицина
- Биомедицина и биофармацевтика
- Физиология растений и фотобиология
- Экология

В программу школы-конференции, кроме устных и стендовых докладов участников, входят лекции ведущих российских и зарубежных ученых, круглые столы, мастер-классы, экскурсии в научные лаборатории институтов Пушинского научного центра, научные и творческие конкурсы, культурная и спортивная программа.

ISBN 978-5-91874-045-3



9 785918 740453 >



ОЦЕНКА МИКРОБНОГО СОСТАВА КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ С ПОМОЩЬЮ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ Курина И.О., Тяхт А.В., Клименко Н.С., Демиденко А.В., Гачковская А.М., Бережная Ю.А., Алексеев Д.Г.....	137
ПРИМЕНЕНИЕ АППАРАТНО-ПРОГРАММНЫХ СРЕДСТВ ARDUINO ДЛЯ ПОСТРОЕНИЯ ПРОСТЫХ ИЗМЕРИТЕЛЬНЫХ ПРИБОРОВ В ЭКСПЕРИМЕНТАХ С МИКРОБНЫМИ ТОПЛИВНЫМИ ЭЛЕМЕНТАМИ (МТЭ) Лазукин А.А., Волченко Н.Н., Самков А.А., Архипова А.С., Худокормов А.А.....	138
РАЗРАБОТКА ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ НА ОСНОВЕ АМНИОТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ Машель Т.В., Александрова О.И., Гаврилюк И.О., Блинова М.И.....	139
ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ БИОЦЕЛЛЮЛОЗЫ Нагметова Г.Ж., Курманбаев А.А.....	140
РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БИОРЕАКТОРА ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ВОДОРОДА В МЕТАН ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ТРЁХ РАЗЛИЧНЫХ КОНСТРУКЦИЙ БИОРЕАКТОРОВ Нечаева А.И., Бояршин К.С., Сенченков В.Ю., Мердинг М., Ламмерс Г., Батлуцкая И.В.....	141
РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ПОЛИАМИНОВ В ШТАММАХ ACREMONIUM CHRYSOGENUM РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ Нураева Г.К., Хомутов М.А., Жгун А.А.....	142
ЭЛЕКТРОСПИННИНГ СМЕСЕЙ ИЗ ПОЛИЛАКТИДА И ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ Павлова Е.Р., Графская Е.Н., Багров Д.В., Клинов Д.В.....	143
РАЗРАБОТКА АДРЕСНОЙ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА Пельтек А.А., Муслимов А.Р., Зюзин А.Р., Тимин А.С.....	144
ВЛИЯНИЕ СООТНОШЕНИЯ C:N В СРЕДЕ НА СИНТЕЗ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ В КУЛЬТУРЕ БАКТЕРИЙ SUPRAVIDUS EUTROPHUS В-10646 Петровская О.Д., Петровская О.Д., Барановский С.В.....	145
НИЗКОТЕМПЕРАТУРНАЯ КОНСЕРВАЦИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ (SPIRULINA, ARTHROSPIRA) Петрухина Д.И.....	146
ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ ТРАНСГЕННОГО КАРТОФЕЛЯ С БЕЛКОВЫМ pH-СЕНСОРОМ RT-GFP Печёрина А.А., Агеева М.Н., Гринберг М.А., Здобнова Т.А., Брилкина А.А.....	147
ИССЛЕДОВАНИЕ ПАРАМЕТРОВ КУЛЬТИВАЦИИ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ CHO C-P1.3-FSH-G4 - ПРОДУЦЕНТА РЕКОМБИНАНТНОГО ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА ЧЕЛОВЕКА Синегубова М.В., Ковнир С.В., Орлова Н.А., Ползиков М.А., Воробьёв И.И.....	148



Биоцеллюлоза, продуцируемая исследуемыми штаммами микроорганизмов, может быть рекомендована для разработки новых биотехнологических препаратов для медицины, косметики, пищевой промышленности и др.

Данная работа ведется в рамках грантового проекта № AP05132472 Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.

РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БИОРЕАКТОРА ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ВОДОРОДА В МЕТАН ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ТРЁХ РАЗЛИЧНЫХ КОНСТРУКЦИЙ БИОРЕАКТОРОВ

Нечаева А.И.¹, Бояршин К.С.^{1,2}, Сенченков В.Ю.¹, Мердинг М.², Ламмерс Г.², Батлуцкая И.В.¹

¹ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Россия; ²Университет прикладных наук Ханзе (Hanze University of Applied Sciences), г. Гронинген, Нидерланды

nechayeva@list.ru

Производство биогаза имеет значение не только для переработки органических отходов, но и для запасания энергии, генерируемой нестабильными источниками, применяемыми в альтернативной энергетике, такими как ветрогенераторы и солнечные батареи.

Количество электроэнергии, получаемой из нерегулярных источников, варьирует в зависимости от погодных условий. При максимальной выработке энергии имеет смысл запастись её для использования в другое время. Одним из способов запасания электрической энергии является электролиз воды с получением водорода. При этом хранение водорода сопряжено с большим количеством проблем, включая высокую способность водорода к диффузии, его химическую активность и взрывоопасность. По этой причине поставлен вопрос об использовании водорода для биосинтеза метана, как более удобного для хранения горючего газа.

Для производства биометана используются микроорганизмы царства археи двух различных групп – ацетокластики разлагают уксусную кислоту до метана и углекислого газа, а гидрогенотрофы синтезируют метан из углекислоты и молекулярного водорода. Для промышленного применения гидрогенотрофной микрофлоры предлагается использование биореакторов по меньшей мере трёх различных конструкций – с пузырьковой колонной, с неподвижным слоем и со струйным течением. Нашей задачей была разработка концептуального эскиза экспериментального биореактора, способного функционировать в трёх различных режимах, позволяя моделировать процессы, протекающие при использовании этих трёх типов конструкции.

Разрабатываемый реактор представляет собой цилиндрическую ёмкость с жидкостной рубашкой для поддержания температуры, с врезанными патрубками для подвода растворов и газов и их последующего отведения. В полости реактора располагаются форсунка для распыления жидкостей, барботёр для подачи газов, а также сетчатый рассекатель для более равномерного распределения пузырьков газа по её объёму. Смена режимов обеспечивается внесением гранул для сорбции микроорганизмов, изменением скорости поступления углекислого газа, подключением либо отключением гидрогенизатора. Разработанная система вентиляей позволяет проводить переключение между режимами без изменения общей архитектуры системы.

BELGOROD STATE NATIONAL RESEARCH UNIVERSITY
DEPARTMENT OF FOREIGN LANGUAGES AND PROFESSIONAL
COMMUNICATION,
INSTITUTE OF CROSS-CULTURAL COMMUNICATION AND
INTERNATIONAL RELATIONS

WE MAKE THE FUTURE

Volume III

Students' Papers

April - May 2019

Belgorod
2019

UDK 378.147
BBK 74.480.278
W 37

Reviewers

I.B.Akinshina, Ph.D. in Pedagogics, Associate Professor,
E.V.Shemaeva, Ph.D. in Philology, Associate Professor,

Editorial Board:

I.V. Borisovskaya, Ph.D in Philology, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

E.N. Taranova, Ph.D. in Philology, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

Yu. S. Blazhevich, Ph.D. in Philology, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

E. E.Bondareva, Assistant Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

I.O. Eschenko, Ph.D. in Philology, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

S.E. Grigorenko, Ph.D. in Pedagogics, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

N.L. Gusakova, Ph.D. in Psychology, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

E.A. Karabutova, Ph.D. in Pedagogics, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

E.A. Mariasova, Ph.D. in Philosophy, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

T.V. Petrunova, Ph.D. in Psychology, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

V.V. Platoshina, Ph.D. in Philosophy, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

Yu.A. Razdabarina, Ph.D. in Philology, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

O.P. Ryadinskaya, Ph.D. in Philology, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

I.V. Sagalaeva, Ph.D. in Pedagogics, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

T.M. Shekhovtseva, Ph.D. in Philology, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

I.V. Sopova, Ph.D. in Philology, Associate Professor, Belgorod State National Research University, Belgorod

W 37 **“WE MAKE THE FUTURE” (April - May 2019)**: Collected papers of students / Editor-in-Chief: I.V. Borisovskaya, E.N. Taranova. – V. III – Belgorod, 2019. – 213 p.

This book is a collection of students' papers written to present the most interesting and the most important universal scientific ideas and researches.

CONTENTS

<i>Andreeva Arina Igorevna</i>	<i>ASSESSMENT OF RADIAL GROWTH OF QUERCUS ROBUR L. WOOD IN PROTECTIVE FOREST-EXTENDING ON THE</i>	11-12
<i>Barskova Anastasia Sergeyevna</i>	<i>LIGNIN - DEPLETING MICROSCOPIC FUNGI AND THEIR USE IN BIOTECHNOLOGY</i>	13-14
<i>Chistyakov Artem Igorevich</i>	<i>NATURAL AND SYNTHETIC DIAMONDS</i>	14-15
<i>Chuyeva Victoria Romanovna</i>	<i>GENETIC ANALYSIS OF MUTATIONS</i>	15-17
<i>Dolzhenko Daria Viktorovna</i>	<i>COGNITIVE GEOGRAPHY. WHAT IS IT LIKE?</i>	17-18
<i>Gayno Valery Mikhaylovich</i>	<i>SOME FACTS ABOUT THE MYSTERY OF BLACK HOLES</i>	19-20
<i>Izotowa Sofija Yurjevna</i>	<i>ORGANISCHE CHEMIE</i>	20-22
<i>Khachatryan Nadezhda Robertovna</i>	<i>WHY BLACK HOLE INTERIORS GROW ALMOST FOREVER</i>	23-25
<i>Kartashova Ella Aleksandrovna</i>	<i>THE STUDY OF THE EFFECT OF CERTAIN BIOLOGICAL DRUGS ON POTATO DISEASES IN THE CONDITIONS OF THE BELGOROD DISTRICT</i>	25-27
<i>Kotin Artur Spartakovich</i>	<i>DIE WINDENERGIE - SO FUNKTIONIERT ES</i>	27-28
<i>Kovaleva Ekaterina Romanovna</i>	<i>DISTURBANCE HYDROLOGY</i>	29-30
<i>Kurbanova Aminat</i>	<i>WATER AS THE MOST UNUSUAL AND MYSTERIOUS LIQUID</i>	30-31
<i>Linnik Ekaterina</i>	<i>ZUBEREITUNG FUNKTIONALER LEBENSMITTEL: LEBENSMITTEL EINER NEUEN GENERATION</i>	32-33
<i>Lisyanyuk Yana Vladimirovna</i>	<i>OCEAN TEMPERATURE IMPACT ON ICE SHELF EXTENT IN THE EASTERN ANTARCTIC PENINSULA</i>	34-35
<i>Nechayeva Anastasia Igorevna</i>	<i>DEVELOPMENT OF AN EXPERIMENTAL BIOREACTOR FOR MODELING THE PROCESSES OF HYDROGEN BIOTRANSFORMATION IN METHANE WHEN USING THREE DIFFERENT CONSTRUCTIONS OF BIOREACTORS</i>	35-36
<i>Podlesnaja Margarita Nikolajevna</i>	<i>BIOLOGIE UND ÖKOLOGIE DER PILZE</i>	36-38
<i>Saphonov Maxim Denisovich</i>	<i>ANIMAL CLONING</i>	38-39
<i>Selyutina Alina Evgenjevna</i>	<i>THE EFFICIENCY OF BIOTECHNOLOGICAL INSECTICIDE "ENTOLEK" IN THE FIGHT AGAINST THE COLORADO POTATO BEETLE</i>	40-41
<i>Serikova Elizaveta Alexeevna</i>	<i>CONTAMINATED SEDIMENT IN THE GREAT LAKES</i>	41-43
<i>Stukalova Antonina Gennadijevna</i>	<i>THIOCYANATE: IMPORTANCE AND DISEASES CONNECTED WITH THIS CHEMICAL</i>	43-44

Scientists have made the analysis of recent data and calculated variations of the Ekman pumping. Ekman pumping is a very effective mechanism by which winds drive subsurface ocean current. This was done to decipher the relationship between wind power in terms of strength and position as well as assessing its effect on SOT. Subsurface ocean temperature (SOT) – is the water temperature close to the ocean's surface.

J. Etourneau (2019) argues that anomalies of Ekman pumping showed negative values in 1970-s and 2000-s. Moreover, the presence of winds blowing from the center of the continent to its periphery in particular on the Antarctic Peninsula presumably affects the Ekman pumping.

DEVELOPMENT OF AN EXPERIMENTAL BIOREACTOR FOR MODELING THE PROCESSES OF HYDROGEN BIOTRANSFORMATION IN METHANE WHEN USING THREE DIFFERENT CONSTRUCTIONS OF BIOREACTORS

*Nechayeva Anastasia Igorevna,
Student, Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology
Belgorod State National Research University, Belgorod
E-mail: nechayeva@list.ru*

*Scientific advisor:
Ryadinskaya Oksana Petrovna,
Ph.D. in Philology,
Assistant Professor of the Department of Foreign Languages and
Professional Communication,
Belgorod State National Research University, Belgorod
E-mail: oryadinskaya@bsu.edu.ru*

Biogas production is important not only for the processing of organic waste, but also for the storage of energy generated by unstable sources used in alternative energy, such as wind turbines and solar panels.

The amount of electricity received from irregular sources varies depending on weather conditions. With maximum energy production, it makes sense to store it for use at another time. One of the ways to store electrical energy is the electrolysis of water to produce hydrogen. At the same time, hydrogen storage is associated with a large number of problems, including a high diffusibility of hydrogen, its chemical activity and explosion hazard. For this reason, the question has been raised about the using of hydrogen for methane biosynthesis, as it is more convenient for storing combustible gas.

For the production of biomethane, microorganisms of the Archaeal kingdom of two different groups are used – acetoclasts decompose acetic acid to methane and carbon dioxide, and hydrogenotrophs synthesize methane from carbon dioxide and molecular hydrogen. For industrial use of hydrogenotrophic microflora, the

using of bioreactors of at least three different designs is proposed – a bubble column, a fixed-bed and a trickle bed reactor. Our task was to develop a conceptual sketch of an experimental bioreactor capable of operating in three different modes, allowing us to simulate the processes occurring when using these three types of construction.

The reactor under development is a cylindrical tank with a liquid jacket to maintain temperature, with embedded connections for the supply of solutions and gases and their subsequent discharge. In the cavity of the reactor there are nozzles for spraying liquids, a bubbler for supplying gases, as well as a mesh divider for a more even distribution of gas bubbles throughout its volume. The change of modes is ensured by the introduction of granules for the sorption of microorganisms, a change in the rate of intake of carbon dioxide, the connection or disconnection of a hydrogenator. The developed valve system allows switching between modes without changing the overall system architecture.

To test the methane biosynthesis method based on hydrogen and carbon dioxide, we used an experimental trickle-bed bioreactor, with a working cavity filled with granules of various types. The nutrient medium was continuously pumped through the piping system from the bottom of the reactor to the top (450 ml/min), where it was applied in the form of droplets on the top layer of granules. The working temperature was chosen at the upper limit of mesophilic conditions, + 45°C.

An important step in the development of the reactor was the selection of porous granules for immobilizing the cells of hydrogenotrophic archaea. Initially, a special Hiflowrings filler was used, with a density of 77 kg/m³, with a surface of 313 m²/m³ and a free space share of 91%. The result of the experiments was the choice as a filler of hydrogranules – a lightweight porous building material obtained by burning clay or slate. This material also has a large surface due to saturation of the pores and provides an increase in the efficiency of the process.

BIOLOGIE UND ÖKOLOGIE DER PILZE

Podlesnaja Margarita Nikolajevna,

*Student, Institute of Pharmacy, Chemistry and Biology
Belgorod State National Research University, Belgorod*

E-mail: 1325164@bsu.edu.ru

Scientific advisor:

Sopova Irina Valentinovna,

Ph.D. in Philology,

*Associate Professor of the Department of Foreign Languages and
Professional Communication,*

Belgorod State National Research University, Belgorod

E-mail: sopova@bsu.edu.ru