Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Уфимский государственный авиационный технический университет»
Местное отделение Российского союза молодых ученых в г. Уфе
Республики Башкортостан
Общественный совет при Государственном комитете Республики Башкортостан
по чрезвычайным ситуациям

НАУКА, ОБРАЗОВАНИЕ, ПРОИЗВОДСТВО В РЕШЕНИИ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБЛЕМ (ЭКОЛОГИЯ-2020)

XVI Международная научно-техническая конференция

Посвящается 75-летию Победы в Великой Отечественной войне

Том 1

Уфа 2020

УДК 574

Наука, образование, производство в решении экологических проблем (Экология-2020) : материалы XVI Международной научно-технической конференции : в 2 т. / Уфимск. гос. авиац. техн. ун-т. – Уфа : РИК УГАТУ, 2020.
ISBN 978-5-4221-1381-1

Том 1 / Уфимск. гос. авиац. техн. ун-т. – Уфа : РИК УГАТУ, 2020. – 357 с.
ISBN 978-5-4221-1382-8

Содержатся статьи, включенные в программу XVI Международной научно-технической конференции «Наука, образование, производство в решении экологических проблем (Экология-2020)».

Материалы публикуются в авторской редакции.

ISBN 978-5-4221-1381-1
ISBN 978-5-4221-1382-8

Вайшля О. Б., Шабанова Н. Ю., Саксанова М. В.
Национальный исследовательский Томский государственный университет,
г. Томск, Российская Федерация

ВЫЯВЛЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ШТАММОВ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМОГО БАЗИДИОМИЦЕТА NEOLENTINUS LEPIDEUS ((FR.) REDHEAD & AMP; GINNS 1985) В ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Аннотация: На территории Томской области найдено и выделено в чистую культуру несколько штаммов *Neolentinus lepideus,* различающихся субстратной приуроченностью. Проведен анализ роста в жидкой культуре по увеличению растворимого белка и убыванию содержания глюкозы. В культуральной жидкости обнаружены: траметеноловая, эбуриковая, молочная, треоновая и яблочная кислоты, эргостерол, глицерол, эритропентитол, арабитол, фуцитол, маннитол, сорбитол, дульцитол, D-хироинозитол, инозитол-3 фосфат, эбурикодиол, метиловый эфир, сахароза, N-ацетилглюкозамин, уридин. Предполагается наличие антибиотического, противоракового и противоопухолевого действия. Из четырех изученных штаммов *N. lepideus* перспективным для промышленного использования в производстве фармакологических препаратов является штамм NL – 12.
Ключевые слова: макромицет *Neolentinus lepideus*, штамм, биологическая активность, леса Томской области.

Vaishlya O. B., Shabanova N. U., Saksanova M. V.
National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

IDENTIFICATION OF TECHNOLOGICAL STRAINS OF PHARMACOLOGICAL SIGNIFICANT BASIDIOMYCET NEOLENTINUS LEPIDEUS ((FR.) REDHEAD & AMP; GINNS 1985) IN FOREST ECOSYSTEMS OF THE TOMSK REGION

Abstract: On the territory of the Tomsk region several strains of *Neolentinus lepideus*, differing in substrate confinement, were found and isolated into a pure culture. Growth analysis in liquid culture tissue was carried out by increasing of soluble protein and by decreasing of a glucose level. We had shown a presence of trametenol, eburic, lactic, threonic and malic acids, ergosterol, glycerol, erythropentitol, arabitol, fucitol, mannitol, sorbitol, dulcitol, D-chiroinositol, inositol-3 phosphate, eburicodiol, methyl ether, sucrose, methyl acetylglucosamine, uridine in a liquid culture. Antibiotic, anticancer and antitumor effects are suspected. Among four studied strains of *N. lepideus*, strain NL – 12 is promising for industrial use in the production of pharmacological preparations.
Key words: macromycete *Neolentinus lepideus*, strain, biological activity, forests of the Tomsk region.

Поиск и выделение новых видов и штаммов макромицетов в культуру перспективно для пополнения коллекций активными продуцентами медико-биотехнологической направленности и разработки новых фармакологических препаратов. В настоящее время с лечебным действием известно около 700 видов базидиомицетов, но полноценно в фармакологии используются только несколько [1]. Коллекции чистых культур высших грибов, выделенных из

природных местообитаний, имеют важное значение для изучения, идентификации биологически активных компонентов и выявления высокотехнологичных штаммов.

С точки зрения биоразнообразия лесные экосистемы Томской области – очень интересный регион, поскольку здесь обнаружены не только исконно таежные виды, но и японские, северо-американские и европейские виды. В силу того, что на территории Томской области находится часть отрогов Кузнецкого Алатау, встречаются и грибы горной местности. На территории Томской области, например, найден гриб Мацутаке, крайне популярный в Японии из-за своей противоопухолевой и противовирусной активности. Целью работы являлся анализ списка микобиоты Томской области, подготовленный микологами Томского госуниверситета (ТГУ), на предмет выявления фармакологически значимых видов грибов [2, 3].

Коллекция образцов макромицетов «*Mycota*» музейного фонда ТГУ, собранных преимущественно на территории Томской области, насчитывает более 7000 образцов: около 1500 видов определены. Тем не менее, лесные биоценозы, являясь базовыми территориями для заготовок дикоросов в Томской области, наименее изучены с точки зрения видового состава макромицетов. Все еще остаются неопределенными около 20–25% сборов коллекционного фонда. Слабо изучены образцы таких крупных родов, как *Cortinarius, Clitocybe, Entoloma, Inocybe, Mycena, Psathyrella* [3].

Из 1274 видов грибов коллекции 146 оказались лекарственными. Сведения взяты из статей в журналах из списка WoS и Scopus. В семейство сыроежковые входит 96 коллекционных видов, 13 из которых являются лекарственными грибами с антимикробной и антиоксидантной активностью. В семействе лисичковые два вида из четырех обладают антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. В семействе болетовых 4 вида лекарственных из 22. Большинство лекарственных грибов из списка микобиоты Томской области обладают антиоксидантной активностью.

Помимо коллекционирования сухих ваучерных образцов, в ТГУ создана и поддерживается коллекция культур некоторых видов *in vitro*. Процесс получения культур макромицетов включает три стадии: сбор и идентификация; выделение культур и верификация; культивирование и изучение. В результате такой работы в Лоскутовском припоселковом кедровнике было обнаружено плодовое тело гриба, который введен в культуру, изучен с помощью классических (макро-, микропризнаки) и молекулярных методов (сравнение сиквенса ITS-региона кластера рибосомальных генов ДНК с референсными последовательностями в GenBank с помощью алгоритма BLASTn). Образец верифицирован как *Neolentinus lepideus*. Данный вид представляет реальный источник получения сложных биологически активных химических соединений с противовирусной активностью. Сохранение и поддержание макромицетов, не часто встречающихся или нестабильно плодоносящих в природе, в коллекции *in vitro* позволяет использовать их в любое время года и способствует сохранению природных грибных ресурсов.

Neolentinus lepideus ((Fr.) Redhead &Amp; Ginns 1985) – пилолистник чешуйчатый, один из самых популярных съедобных грибов в Китае и Японии, является близким «родственником», издавна известного своими лекарственными свойствами, гриба шиитаке – *Lentinus edodes* (Berk.) Singer 1941 [4]. Шиитаке в народной медицине Востока считается пищей, которая «активирует кровь» и используется для лечения простуды, кори у детей, бронхитов, при желудочной и головной боли, общей слабости. Преимуществом *N. lepideus* является то, что данный гриб произрастает на территории Томской области, имеет более крупные плодовые тела и, в силу своей сапротрофности, легко культивируется на различных субстратах. В зарубежной литературе имеется информация об иммуномодулирующем, антиоксидантном, антигиперлипидемическом, антибактериальном и противогрибковом действии этого пилолистника [5, 6].

Сбор плодовых тел осуществляли в период их массового появления, в сухую погоду. При сборе грибов сохраняли целиком ножку, аккуратно извлекая ее из субстрата – почвы, древесины и т. д. Для выделения культуры выбирали молодые, неповрежденные плодовые тела, так как они меньше инфицированы микроорганизмами. Выделение проводили в день сбора: плодовое тело очищали от прилипших растительных остатков и соскабливали почву с ножки. Затем стерильным скальпелем делали вертикальный надрез ножки и по надрезу разламывали плодовое тело, извлекая и помещая на питательные среды кусочки трамы [6].

Состав питательной среды является одним из определяющих факторов, влияющих на накопление биомассы высших базидиомицетов в условиях чистой культуры. Для получения плодоношения в культуре *in vitro* питательные среды должны соответствовать определенным требованиям. Источник углерода в наиболее часто используемых для плодоношения средах вносили в виде углеводов (глюкозы, мальтозы, сахарозы, спирта). Азот в такие среды вносился в органической (в виде α-аланина, аспарагина, других аминокислот) или минеральной форме. В последнем случае предпочтение отдавали аммонийным солям. В питательной среде большое значение имело отношение C:N и присутствие в среде тиамина [6].

Для посева мицелия использовали следующие среды: Худякова – Возняковской, Хагема, Чапека, Сусло – агар. Колонию культуры разрезали стерильным скальпелем на кусочки и переносили на агаризованную питательную среду на чашки Петри, в одну чашку помещали от одного до пяти кусочков. Пересев проводили в стерильных условиях в ламинарном боксе. Засеянные чашки помещали в контейнеры. Затем культуры хранили при температуре +25–28 °C.

Метаболомный анализ мицелия и плодовых тел осуществляли, используя газовую хромато-масс-спектрометрию. Для получения метаболомного профиля поверхностный и погруженный мицелий, и плодовые тела центрифугировали в режиме 15 000 об/мин в течение 10 минут. Хроматограммы получали на масс-спектрометре при входном давлении газа 0,61 кПа. Анализ соединений

проводили на газовом хроматографе Agilent Technologies 7820A GC System с масс – селективным детектором Agilent 5975 VL. В работе использовали пакет программ *AMDIS* и пакет программ *UniCrom* – специализированные программные средства для регистрации, обработки и хранения хроматографической информации [7].

В ходе работы были исследованы четыре штамма *Neolentinus lepideus* различного происхождения, выделенных на территории Томской области и свободных от контаминации микофильными грибами (табл. 1).

Таблица 1

Штаммы *N. lepideus,* выделенные на территории Томской области

Номер штамма	Время и место сбора	Субстрат
NL – 12	Университетская роща ТГУ 14.07.2016	*Betula pendula*
AV – 18	Лоскутовский припоселковый кедровник 21.06.2017	*Pinus sibirica*
RS – 17	Деревня Петрово Томской обл. 09.07.2018	*Populus nigrum*
NK – 26	ООПТ «Таловские чаши» 23.08. 2018	*Pinus sylvestris*

Изучение динамики роста гриба *N. lepideus* в культуре проводили по двум параметрам – снижению содержания глюкозы в культуральной жидкости и по увеличению содержания водорастворимого белка. Изменение этих параметров при глубинном культивировании *N. lepideus* показало, что штаммы 12 и 26 имеют высокий уровень накопления белка при низких значениях глюкозы (рис. 1, 2).

Полученные результаты позволяют заключить, что обе культуры – штамм 12 и 26 показали дискретный рост по стандартной S-образной кривой, который условно можно разделить на три этапа:

1. Латентная. Период 1–4 сутки культивирования. Характеризуется слабым приростом биомассы, не более 0,5-0,1 мг/мл белка в сутки;

2. Экспоненциальная. Активный прирост биомассы: для штамма 26 – на 5–10 сутки, для штамма 12 период прироста биомассы более выражен и длится в течение 6–12 суток культивирования;

3. Стационарная. При уровне глюкозы 100 мкг/мл и ниже, происходит уменьшение среднесуточного прироста белка. В каждые последующие сутки гриб теряет способность к продуцированию белка.

Найден наиболее эффективный штамм для промышленного культивирования пилолистника чешуйчатого. Анализ роста макромицета Neolentinus lepideus позволяет заключить, что при уровне глюкозы 100 мкг/мл и ниже, происходит уменьшение среднесуточного прироста белка. С целью накопления биомассы белка эффективнее использовать 6–12-суточную культуру штамма NL – 12, т. к. он продемонстрировал наибольший прирост белка в культуральной жидкости при наименьшем потреблении глюкозы.

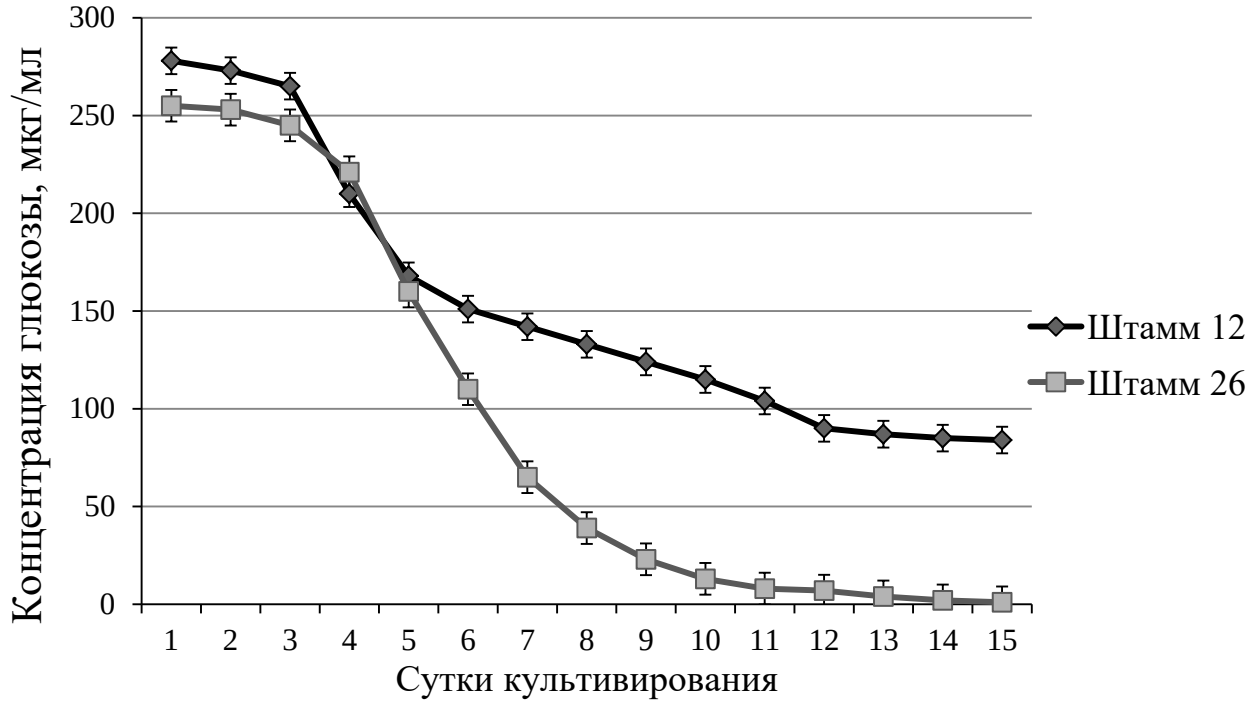

Рис. 1. Динамика потребления глюкозы жидкими культурами *Neolentinus lepideus* штаммы 12 и 26

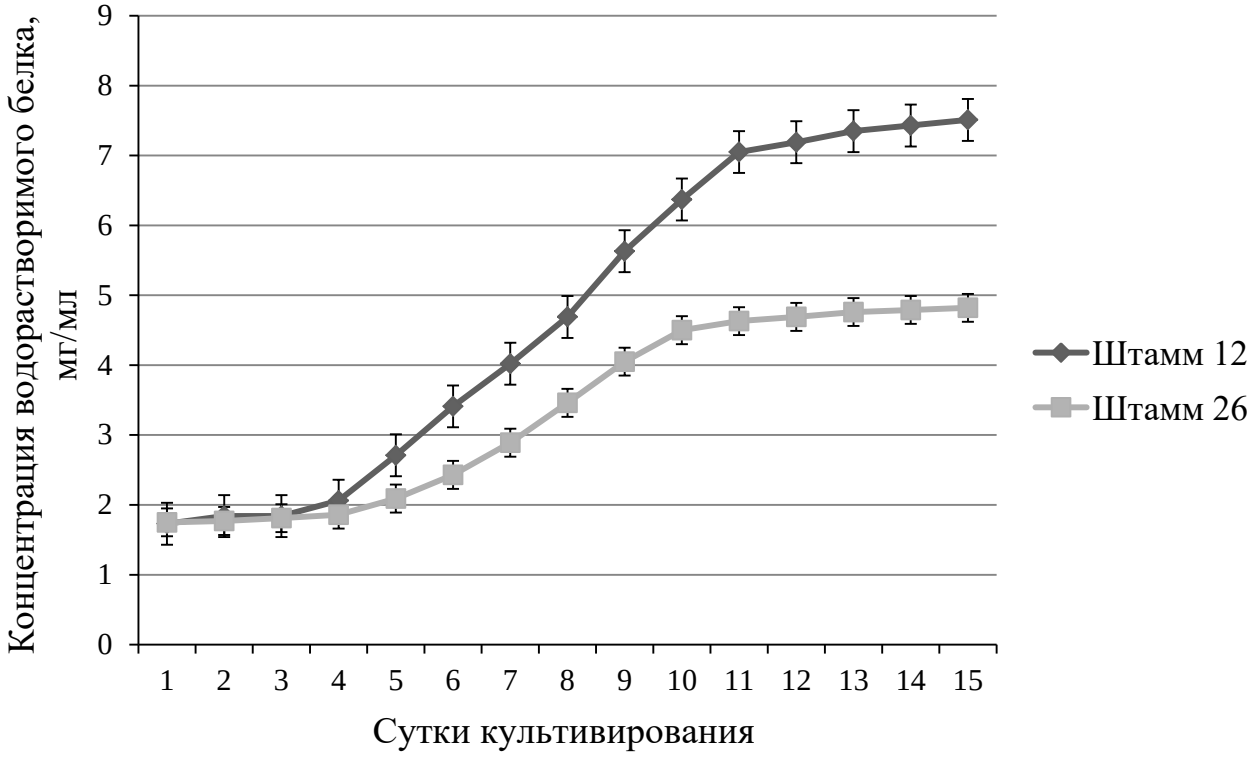

Рис. 2. Динамика накопления биомассы в жидкой культуре штаммов 12 и 26 *N. lepideus*

Анализ метанольного и хлороформного экстрактов *N. lepideus* показал, что состав метаболитов гриба характеризуется соединениями, которые относятся к различным классам: сахара, сахароспирты, жирные кислоты и их метиловые эфиры, органические кислоты и специфические вещества (табл. 2).

Таблица 2

Биохимический состав жидкой культуры гриба *N. Lepideus*

Метаболиты	Способ экстракции	
	Метанол	Хлороформ
Специфические соединения	Эргостерол и его производные, ланостерол	Эргостерол и его производные
Органические кислоты	Молочная, яблочная, треоновая траметеноловая, эбуриковая	Траметеноловая, эбуриковая
Сахара	Сахароза	Не определяется
Сахароспирты	Глицерол, эритропентитол, арабитол, рибитол, фуцитол, маннитол, сорбитол, дульцитол, D-хироинозитол, инозитол-3-фосфат, эбурикодиол	Арабитол, эбурикодиол
Жирные кислоты	C16:0 C18:0 C18:2 C18:1	C16:0 C18:0 C18:2 C18:1
Другие соединения	N-ацетилглюкозамин, 5-метил уридин, уридин, глюкозо-6-фосфат, метиловый эфир траметеноловой кислоты, метиловый эфир эбуриковой кислоты	Не определяется

Сравнительные данные о составе метаболитов культуральной жидкости *N. lepideus* показали, что из 30 метаболитов метанольный экстракт характеризуется большим выходом метаболитов по сравнению с хлороформным.

Наличие в мицелии *N. lepideus* ланостерола, траметеноловой и эбуриковой кислот подтверждает его медицинскую значимость, так как эти компоненты известны своей биологической активностью. Так, Su Y. C. в своей работе сообщил, что эбуриковая кислота эффективна при лечении рака печени [8]. Противоопухолевая активность чаги обусловлена присутствием в ее составе ланостерола и траметеноловой кислоты [9]. Также есть сведения о том, что *Neolentinus lepideus* обладает антивирусной активностью [6]. Поэтому можно предположить наличие подобной активности и у рассмотренных в статье штаммов *Neolentinus lepideus.*

Таким образом, из четырех изученных штаммов *N. lepideus* перспективным для промышленного использования в производстве фармакологических препаратов является штамм NL – 12.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wasser S. P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides // Applied Microbiology Biotechnology. 2002. Vol. 60. Iss. 3. P. 258–274.
2. Кудашова Н. Н., Гашков С. И., Кутафьева Н. П. Предварительный список макромицетов Томской области: подотдел *Pezizomycotina (Ascomycota)* и класс *Agaricomycetes (Basidiomycota)* // Систематические заметки по материалам Гербария им. П. Н. Крылова Томского государственного университета. 2013. № 107. С. 22–70.
3. Кудашова Н. Н., Гашков С. И., Вайшля О. Б. Дополнительные данные к списку макромицетов Томской области // Систематические заметки по материалам гербария им. П.Н. Крылова Томского государственного университета. 2016. № 114. С. 49–60.
4. Белова Н. В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов в России // Микология и фитопатология. 2004. Т. 38, Вып. 2. С. 1–7.
5. Теплякова Т. В., Косогова Т. А. Высшие грибы Западной Сибири – перспективные объекты для биотехнологии лекарственных препаратов. Новосибирск, 2014. 298 с.
6. Косогова Т. А. Штаммы базидиальных грибов юга Западной Сибири – перспективные продуценты биологически активных препаратов: автореф. дис. … канд. биол. наук. Кольцово, 2013. 26 с.
7. Белова Н. В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов в России // Микология и фитопатология. 2004. Т. 38, Вып. 2. С. 1–7.
8. Wu H. T. et al. In Vivo and In Vitro Anti-Tumor Effects of Fungal Extracts // Molecules. 2014. V. 19. Iss. 2. P. 2546–2556.
9. Жукович Е. Н. и др. Тетрациклические тритерпены чаги, *Inonotus obliquus* (pers.) Pil., произрастающей в России // Химико-фармацевтический журнал. 2010. Т. 44, № 9. С. 495–496.

Веселова Н. А.
Российский государственный аграрный университет – МСХА
им. К. А. Тимирязева, г. Москва, Российская Федерация

ВЛИЯНИЕ ПОСЕТИТЕЛЕЙ НА ПОВЕДЕНИЕ ХИЩНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ В ЗООПАРКЕ

Аннотация: В работе проведен анализ проблемы влияния посетителей на поведение животных в зоопарках. Рассмотрены поведенческие особенности некоторых представителей отряда Хищные (Carnivora).
Ключевые слова: хищные (Carnivora), поведение, посетители, зоопарк, стресс.

Veselova N. A.
Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
Moscow, Russian Federation

THE INFLUENCE OF VISITORS ON THE BEHAVIOR OF CARNIVORES IN THE ZOO

Abstract: In work the analysis of the problem of the influence of visitors on the behavior of animals in zoos. The behavioral characteristics of some species of the order Carnivora are considered.
Key words: Carnivores (Carnivora), behavior, visitors, zoo, stress.