

Полученные данные об отсутствии связи между наличием симбиотических микроорганизмов у тлей *M. gei*, коллектированных на территории Беларуси, и кормовым растением, а также вариабельность перечня симбионтов в пределах одного вида тли может свидетельствовать о том, что симбиотический спектр отдельных особей тлей определяется случайными причинами. В связи с этим вопрос о возможных путях попадания симбионта в организм насекомого-хозяина остается открытым.

Исследование выполнено при поддержке гранта, выделенного Министерством образования Республики Беларусь, докторантам, аспирантам и студентам в 2017 г.

Список литературы:

1. Facultative symbionts in aphids and the horizontal transfer of ecologically important traits / K. M. Oliver [et al.] // Annual Review of Entomology. – 2010. – Vol. 55, N. 1. – P. 247–266.
2. Faithful vertical transmission but ineffective horizontal transmission of bacterial endosymbionts during sexual reproduction of the black bean aphid, *Aphis fabae* / K. Vorburger [et al.] // Ecological Entomology. – 2017. – Vol. 42, N. 2. – P. 202–209.
3. Horizontal transmission of the insect symbiont *Rickettsia* is plant-mediated / A. Caspi-Fluger [et al.] // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2012. – Vol. 279, N. 1734. – P. 1791–1796.
4. Facultative bacterial endosymbionts of three aphid species, *Aphis craccivora*, *Megoura crassicauda* and *Acyrtosiphon pisum*, sympatrically found on the same host plants / T. Tsuchida [et al.] // Appl. Entomol. Zool. – 2006. – Vol. 41, N. 1. – P. 129–137.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ РАСТЕНИЙ *VIDENSFRONDOSUS* L.- ИНВАЗИВНОГО ВИДА ВО ФЛОРЕ БЕЛАРУСИ

Скуратович Т.А.¹, Молчан О.В.¹, Голенченко С.Г.²

¹ ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси», г. Минск, tskuratovich@yandex.ru

² Белорусский государственный университет, г. Минск

*Установлено, что экстракты череды олиственной оказывают антибактериальную активность относительно *Staphylococcus aureus* 6538, *Staphylococcus aureus* 25923, *Enterococcus faecalis* 29212 и фунгистатическое действие в отношении фитопатогенных грибов *Fusarium avenaceum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis cinerea*. Биологическая активность находится в соответствии с содержанием суммы фенольных соединений в экстрактах.*

Введение. Череда олиственная – однолетнее травянистое растение до 1,5 м высотой [5]. Этот вид первоначально произрастал в Северной Америке и с 19-го века начал распространяться в Европе [10]. В Беларуси впервые был отмечен в г. Бресте (1955 г.) [4]. С этого времени количество известных местонахождений значительно возросло [2]. Не смотря на широкое территориальное распространение череды олиственной, фармакологические свойства ее изучены весьма недостаточно. Наиболее известной в фармацевтическом отношении является череда трехраздельная, включенная в Государственную фармакопею Республики Беларусь [1]. Трава череды трехраздельной улучшает пищеварение, нормализует обмен веществ, обладает противовоспалительными и ранозаживляющими свойствами [3]. В связи с тем, что места естественного обитания аборигенного вида череды трехраздельной значительно сокращаются, возникает необходимость в исследовании биологической активности инвазивного вида череды – череды олиственной, который может быть альтернативным источником фармакологически ценного сырья.

Целью данной работы являлось изучение антибактериальной и фунгицидной активности инвазивного вида *Bidensfrondosus*L.

Объекты и методы исследования

Объектами исследований были высушенные измельченные листья растений *Bidensfrondosus*L, собранных в фазу бутонизации начала цветения на территории Минской области г. Солигорска.

Для определения антибактериальной и фунгицидной активности использовали следующие варианты экстрактов листьев растений *Bidensfrondosus*L:

1. Соотношение навеска/экстрагент (вода) 1:50;
2. Соотношение навеска/экстрагент (вода) 1:5;
3. Соотношение навеска/экстрагент (25% этанол) 1:5;
4. Соотношение навеска/экстрагент (40% этанол) 1:5.

Контроль – соответствующие экстрагенты: вода, 25 и 40% этанол.

В качестве основных тест-объектов для оценки антибактериальной активности служили условные патогены человека *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC® 6538P™), *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC® 25923™), *Enterococcus faecalis* (Andrewes and Horder) Schleifer and Kilpper-Balz (ATCC® 29212™).

Посев микроорганизмов для формирования бактериального газона проводили методом Дригальского. Для выявления антибактериальной активности применяли метод лунок [6]. Учет результатов проводили через 48 часов инкубирования при температуре 37°C. О наличии антибактериальной активности судили по появлению зоны задержки роста бактерий вокруг лунки с экстрактом череды.

Для определения фунгицидной активности использовали фитопатогенные грибы *Fusarium avenaceum*, *Colletotrichum gloeosporioides*,

Botrytis sceneria. Посев грибов проводили методом агаровых блоков [6]. Культивировали патогены при температуре 28°C. Результаты оценивали на 4-е сутки по радиусу зон роста грибов.

Фенольные соединения экстрагировали водой, 25 и 40% этанолом при 80°C трехкратно по 30 минут и определяли спектрофотометрически с использованием реактива Фолина-Дениса в пересчете на галловую кислоту [11]. Оптическую плотность поглощения определяли с помощью спектрофотометра СФ 2000 (Россия).

Антиоксидантную активность оценивали по реакции с 0,002 % раствором DPPH (дифенил-2-пикрил-гидразил) [9].

Обработку данных производили с помощью пакета статистического анализа программы Microsoft Excel. Основными статистическими характеристиками служили: средняя арифметическая величина и ошибка средней величины. Эксперименты были выполнены в 3-х кратной повторности.

Результаты и обсуждение

Исследована фунгицидная активность экстрактов листьев *Bidens frondosus* L. относительно фитопатогенных грибов *Fusarium avenaceum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis sceneria* (рисунок 1).

Установлено, что экстракт варианта № 4 (соотношение навеска/экстрагент (40% этанол) 1:5) оказывал фунгистатическое действие по отношению к исследованным патогенам. Площадь колоний грибов в данном варианте в среднем на 60 % меньше контрольного значения.



Рисунок 1 – Оценка фунгистатической активности экстрактов листьев *Bidens frondosus* L.

Исследовано влияние экстрактов листьев *Bidens frondosus* L. на рост культур бактерий *Staphylococcus aureus* 6538 (рисунок 2), *Staphylococcus aureus* 25923, *Enterococcus faecalis* 29212. В вариантах опыта 2, 3, 4 наблюдалось ингибирование роста бактерий. Максимальная антибактериальная активность экстрактов была характерна для варианта №4.

Площадь зоны задержки роста *Staphylococcus aureus* 6538, *Staphylococcus aureus* 25923 и *Enterococcus faecalis* 29212 в данном случае составляла 4,5; 2,0 и 13,8 см²соответственно.

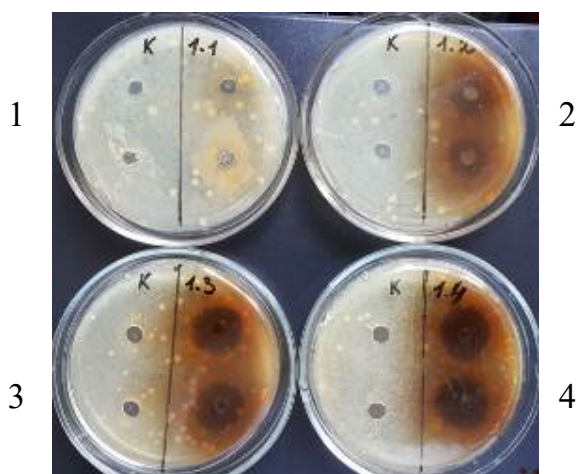


Рисунок 2 – Антибактериальная активность экстрактов листьев *Bidensfrondosus* L в отношении *Staphylococcus aureus* 6538

Экстракт листьев череды олиственной в варианте №1 (соотношение навеска/экстрагент (вода) 1:50) оказал положительный результат только по отношению к *Enterococcus faecalis* 29212 (зона задержки роста бактерий – 3,1 см²).

Далее нами была определена сумма фенольных соединений и их антирадикальная активность в исследуемых экстрактах череды олиственной. Установлено, что максимальное содержание суммы фенольных соединений (1,62±0,019 мг/лунку) было в варианте № 4, где наблюдались максимальная антибактериальная активность и фунгистатический эффект относительно исследованных патогенов. Антирадикальная активность этих экстрактов была также максимальной (таблица 1).

Таблица 1 – Сумма фенольных соединений и антирадикальная активность в экстрактах *Bidensfrondosus*L

| Вариант | Сумма фенольных соединений мг/лунку | Антирадикальная активность, %/г сухой массы |
|---------|-------------------------------------|---|
| 1 | 0,10±0,002 | 0,37±0,061 |
| 2 | 1,09±0,003 | 4,05±0,182 |
| 3 | 1,24±0,009 | 6,28±0,322 |
| 4 | 1,62±0,019 | 9,93±0,096 |

Можно предположить, что существенное влияние на проявление антибактериальной и фунгистатической активности экстрактов листьев *Bidensfrondosus* L.оказывают фенольные соединения. Таким образом, биологическая активность находится в соответствии с содержанием суммы фенольных соединений в экстрактах. Согласно имеющимся публикациям [8]

спиртовые экстракты, содержащие фенольные соединения, других видов рода Черда обладают противоаллергической активностью в то время как о бактериальной и фунгицидной активности экстрактов листьев *Bidensfrondosus* L. имеются малочисленные данные[7].

Заключение

Исследовано влияние экстрактов листьев *Bidensfrondosus* L. на рост ряда бактериальных и грибных патогенов. Установлено, что этанольные экстракты череды олиственной оказывают ингибирующий эффект на рост бактерий *Staphylococcus aureus*6538, *Staphylococcus aureus* 25923, *Enterococcus faecalis* 29212 и фунгистатическое действие в отношении фитопатогенных грибов *Fusarium avenaceum*, *Colletotrichumgloe osporioides*, *Botrytis cinerea*. Можно предположить, что весомый вклад в проявление антибактериальной и фунгистатической активности вносят фенольные соединения экстрактов.

Авторы выражают благодарность сотруднику кафедры ботаники Белгосуниверситета Джусу М.А. за помощь в сборе сырья растений.

Работа выполнялась в рамках подпрограммы 2 «Противодействие экспансии чужеродных видов организмов, минимизация ущербов для природного биоразнообразия, экономики и здоровья человека» (Инвазии и экобезопасность) ОНТП «Интродукция, озеленение, экобезопасность» на 2016-2020 гг.

Список литературы:

1. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 3 т. / РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; редкол.: под общ.ред. А. А. Шерякова. – Минск :Минский государственный ПТК полиграфии им. В. Хоружей, 2006–2009. – Т. 2. – 2007. – 471 с
2. Джус, М.А. Род *Bidens* L. (Asteraceae) во флоре Белоруссии // Материалы I(IX) Международной Конференции Молодых Ботаников в Санкт-Петербурге, Санкт-Петербург, 21–26 мая 2006. – СПб: Изд-во ГЭТУ, 2006.– С. 49–50.
3. Изучение фармакологической активности суммарных комплексов череды трехраздельной / А.С. Микаэлян[и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2006. – № 10. – С. 62-66.
4. Корнась, Я. О находке *Bidens melanocarpus* Wiegand в Бресте // Ботанические материалы гербария Ботан. ин-таим. В.Л. Комарова АН СССР. – М.–Л., 1960. – Т. 20. – С. 337–339.
5. Распространение череды олиственной (*Bidens frondosus* L., Asteraceae) в Беларуси и содержание биологически активных соединений в сырье растений / О.В. Молчан [и др.] // Труды Белорусского государственного университета. – 2016. – Т.11, Ч. 2. – С. 123–131.

6. Сэги, Й. Методы почвенной микробиологии / Й. Сэги. – М.: Колос, 1983. – 253 с.
7. Antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of *Bidens frondosa* Linn / A. Rahman [et al.] // International journal of food science and technology. – 2011. – Vol.46. – P.1238–1244.
8. Antimicrobial and antifungal activities of the extracts and essential oils of *Bidenstripartite* / M. Tomczykowa[et al.] // Folia histochem cytobiologica. – 2008. – Vol.46, № 3. – P.389–393.
9. Blois, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical / M.S. Blois // Nature. – 1958. – V. 181. – P. 1199-1200.
10. Köck, U.V. Ökologischeaspekte der ausbreitungvon *Bidens frondosa* L. in mitteleuropa. Verdrängter *Bidenstripartita*L. / U.V. Köck// Flora. –1988. – Vol.180. –P. 177–190.
11. Folin, O. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins / O. Folin,V.Ciocalteu// J. Biol. Chem. – 1927. – Vol. 73, № 2. – P. 627–650.

КОНСТРУИРОВАНИЕ ГИБРИДНОГО ГЕНА, КОДИРУЮЩЕГО РЕКОМБИНАНТНЫЙ ФЬЮЖН-БЕЛОК СВМТ-ESC-B(1–20)

Совгир Н.В., Бусленко А.В., Прокулевич В.А.

Белорусский государственный университет, г. Минск,
sovgirnv@gmail.com

В клетках E. coli в составе вектора pET-24b(+) клонирована сконструированная гибридная молекула ДНК, состоящая из гена углеводсвязывающего модуля фермента ксиланазы 10А бактерий *Thermatoga maritima* и гена N-концевого фрагмента антимикробного пептида эскулентина-1b лягушки (*Rana esculenta* L., 1758). Правильность созданной последовательности гибридного гена подтверждена ДНК-секвенированием.

Введение. Антимикробные пептиды (АМП), способные губительно действовать на клетки микроорганизмов, представляют собой небольшие молекулы, выделяемые организмом-хозяином в ответ на микробные инвазии, и являются одним из механизмов врожденного иммунитета [5]. Среди природных источников антимикробных пептидов наиболее богатыми являются кожные секреты земноводных [7].

В работе использовали участок последовательности гена АМП эскулентина-1b прудовой лягушки (*Rana esculenta* L., 1758) [3], детерминирующий синтез первых 20 N-концевых аминокислотных остатков эскулентина-1b. По данным L. Marcellini et al. [6] этот фрагмент обладает такой же антибактериальной активностью, как и полноразмерный белок.

Рекомбинантные АМП являются привлекательными объектами для биотехнологического производства фармацевтических субстанций, лишенных отрицательных качеств, присущих антибиотикам [5]. Получение