



- лятов бактерий // *Фундаментальные исследования*. 2013. № 12, ч. 1. С. 127–130.
7. Нечаева О. В., Ульянов В. Ю., Заярский Д. А., Тихомирова Е. И., Вакараева М. М. Влияние биосовместимого полимерного соединения на выживаемость возбудителей инвазивных микозов // *Проблемы мед. микологии*. 2014. Т. 6, № 2. С. 106.
8. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. МУК 4.2.1890-04. М. : Изд. отдел Федерального центра Госсанэпиднадзора Минздрава РФ, 2004. 91 с.
9. Ашмарин И. П. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л. : Медгиз, 1962. 180 с.
10. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М. : Мир, 2001. 486 с.
11. Зырянов С. К., Леонова М. В. Терапевтическая значимость фармакокинетики противогрибковых средств // *Клиническая фармакокинетика*. 2005. Т. 2, № 1. С. 49–63.
12. Сергеев А. Ю., Сергеев Ю. В. Грибковые инфекции : Руководство для врачей. М. : Бином. 2004. 440 с.

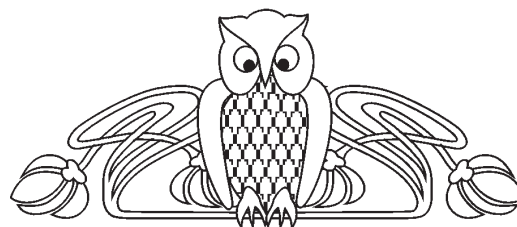
УДК 579.835+581.19

ОСОБЕННОСТИ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ ГЛИКОПОЛИМЕРОВ ПОВЕРХНОСТИ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* Sp7 И Sp245 ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В ПРИСУТСТВИИ ФЛАВОНОИДОВ

А. А. Петрунина¹, М. В. Каневский^{1, 2},
Ю. П. Федоненко², О. И. Гулий², С. А. Коннова¹

¹Саратовский государственный университет
E-mail: Konnovasa@yandex.ru

²Институт биохимии и физиологии растений
и микроорганизмов РАН, Саратов
E-mail: room308@ibppm.sgu.ru



Показано, что выращивание *Azospirillum brasilense* Sp245 и Sp7 в присутствии эффективных концентраций рутина и кверцетина, установленных для данных культур, приводило к изменениям электрооптических характеристик суспензий бактериальных клеток. Продемонстрировано изменение в этих условиях физико-химических и антигенных свойств поверхности бактериальных клеток и макромолекулярной организации ЛПС.

Ключевые слова: *Azospirillum*, кверцетин, рутин, липополисахарид.

Physicochemical and Antigenic Properties of Surface Glycopolymers of *Azospirillum brasilense* Sp7 and Sp245, Grown in the Presence of Flavonoids

A. A. Petrunina, M. V. Kanevskiy, Yu. P. Fedonenko,
O. I. Guliy, S. A. Konnova

It is shown that the cultivation of *Azospirillum brasilense* Sp245 and Sp7 in the presence of effective concentrations of rutin and quercetin, established for these strains, led to changes in the electro-optical characteristics of the bacterial cell suspensions. Changes of physicochemical and antigenic properties of the bacterial cell surface and macromolecular organization of lipopolysaccharides are demonstrated, when grown in these conditions.

Key words: *Azospirillum*, quercetin, rutin, lipopolysaccharide.

Бактерии рода *Azospirillum* относятся к группе микроорганизмов, стимулирующих рост растений. Интерес к азоспириллам вызван их

способностью формировать ассоциативные отношения с широким спектром растений, в том числе с важнейшими кормовыми культурами и хлебными злаками, а также их способностью продуцировать физиологически активные вещества – фитогормоны и витамины [1]. При формировании ассоциативных отношений важную роль играют вторичные метаболиты растений, выделяемые в ризосферу, а также макромолекулы, представленные на поверхности бактериальных клеток. В частности, показано, что в формировании микробного окружения растения участвуют флавоноиды – полифенольные соединения, содержащиеся в экссудатах корней [2] – а также гликополимеры (липополисахариды (ЛПС) и капсульные полисахариды (КПС)), локализованные на поверхности бактериальных клеток и занимающие до 75% площади поверхности внешней мембраны [3].

Данные о влиянии флавоноидов на установление ассоциативных отношений микроорганизмов с растениями немногочисленны. Ранее было показано, что под влиянием экстрактов корней пшеницы, а также отдельных представителей класса флавоноидов происходят изменения состава и структуры ЛПС и КПС бактерий рода *Azospirillum* [4–6].



Интерес к *A. brasilense* Sp7 и Sp245 обусловлен тем, что они относятся к одному из двух наиболее изученных видов азоспирилл, продуцируют разные по составу, структуре и антигенным свойствам ЛПС и отличаются стратегией поведения в процессе формирования симбиотических отношений [7, 8].

Поскольку наиболее важным с практической точки зрения является изучение формирования ассоциативных отношений азоспирилл с хлебными злаками, то внимание исследователей сосредоточено на изучении действия на азоспириллы содержащегося в экссудатах корней пшеницы флавонола кверцетина [9], а также широко представленного в почве гликозида кверцетина – рутин [10]. Рутин характеризуется меньшей гидрофобностью по сравнению с кверцетином, так как в его состав входит углеводная компонента.

Исходя из вышесказанного, цель данной работы состояла в изучении особенностей влияния флавоноидов на физико-химические свойства гликополимеров поверхности *A. brasilense* Sp7 и Sp245.

Материалы и методы исследования

Диазотрофные грамотрицательные бактерии *A. brasilense* Sp7 и Sp245, выделенные с корней росички лежачей (*Digitaria decumbens*) и из ризосферы пшеницы (*Triticum vulgare*) соответственно (Tarrand et al., 1978; Baldani et al., 1983), были любезно предоставлены коллекцией микроорганизмов ИБФРМ РАН (г. Саратов). Исследуемые штаммы культивировали в жидкой синтетической среде с малатом натрия и хлоридом аммония в присутствии флавоноидов в диапазоне концентраций от 31,25 мкМ до 2 мМ в течение 24 часов [11]. Растворы флавоноидов в диметилформамиде (ДМФА) вносили в среду после стерилизации до внесения инокулята.

Динамику роста микроорганизмов в присутствии флавоноидов исследовали фотометрически на Specord 40 (Analytik Jena, Германия) при $\lambda = 600$ нм. Поскольку в процессе культивирования бактерий цвет среды, содержащей флавоноиды, изменялся, конечное значение оптической плотности получали как разность значений оптической плотности D культуры микроорганизмов и культуральной жидкости.

Измерения ориентационных спектров клеток проводили на электрооптическом анализаторе ELUS, разработанном в Государственном научном центре прикладной микробиологии (Оболенск, Россия), как описано в работе [4].

Ориентационные спектры (ОС) представлялись в виде частотной зависимости разности

значений оптической плотности суспензий δOD , измеренных при распространении пучка неполяризованного света вдоль и поперек направления ориентирующего поля. Эта разность была нормирована на значение оптической плотности при хаотической ориентации клеток [12, 13].

Твердофазный иммуноферментный анализ (ТИФА) выполняли в полистироловых 96-луночных планшетах («Медполимер», Россия). По 50 мкл последовательных двукратных разведений растворов ЛПС (в 0,15 М фосфатно-солевом буфере, pH 7.2) вносили в лунки планшетов. Иммунодетекцию проводили с применением гомологичных поликлональных кроличьих АТ, специфичных к препаратам ЛПС исследуемых штаммов. В качестве «вторых» использовали козы антикроличьи АТ, конъюгированные с пероксидазой хрена («Sigma»). В качестве субстратного реагента использовали перекись водорода с 3,3'-диаминобензидином. Оптическое поглощение исследуемых проб измеряли на иммуноферментном анализаторе Multiscan Ascent при $\lambda = 492$ нм («Thermo scientific», Финляндия).

Исследование относительной гидрофобности поверхности бактериальных клеток проводили, используя тест солевой агрегации [14]. В лунки планшета вносили по 25 мкл раствора сульфата аммония в фосфатном буфере в диапазоне концентраций от 15 до 60%. Затем в каждую лунку вносили суспензию бактериальной культуры, предварительно однократно отмытой фосфатным буфером.

Экстракцию ЛПС для анализа методом электрофореза проводили из двукратно отмытой фосфатным буфером (pH 7,2) сырой биомассы бактерий в течение 15 мин этилендиамидтетраацетат (ЭДТА) содержащим буфером [15].

Электрофорез препаратов ЛПС в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия (ДСН-ПААГ) выполняли в соответствии с методикой [16] с последующей визуализацией продуктов разделения углеводов компонентов окрашиванием гелей красителем на основе азотнокислого серебра с предварительным периодатным окислением [17].

При иммуноблоттинге проводили электроперенос разделенных компонентов на нитроцеллюлозные фильтры («Schleicher & Schuell», 0,2 мкм). Иммунодетекцию выполняли, инкубируя блоты с антителами к ЛПС, для проявления использовали пероксидазу хрена, конъюгированную с козлиными антикроличьими антителами, и 3,3'-диаминобензидин в качестве субстрата пероксидазы.



Результаты и их обсуждение

Интерес к флавоноидам обусловлен их широкой распространённостью среди вторичных метаболитов растений, экскретируемых в почву, высокой физиологической активностью и определяющей ролью в симбиотических отношениях [18].

Поскольку флавоноиды плохо растворимы в воде, в качестве растворителя был использован ДМФА, так как он обладает наименьшей собственной бактериостатической активностью по отношению к азоспириллам [19].

Флавоноиды в высоких концентрациях способны подавлять или замедлять рост бактерий. Поэтому на первом этапе исследований были проведены эксперименты по определению минимальной ингибирующей концентрации (МИК)

препарата рутин в отношении бактерий. Она составила 20 мг/мл (33.2 мМ). Для кверцетина концентрация, ингибирующая рост азоспирилл, была исследована ранее [19] и составила 3 мг/мл (10 мМ).

В дальнейших экспериментах использовался диапазон концентраций флавоноидов от 31,25 мкМ до 2 мМ – на несколько порядков ниже МИК.

При анализе кривых роста *A. brasilense* Sp7 и Sp245, культивируемых в присутствии эффективных концентраций флавоноидов, установлено, что отсутствует влияние рутина и кверцетина на динамику роста бактерий, однако добавление кверцетина (рис. 1) снижает продукцию биомассы приблизительно на 15 и 5% соответственно.

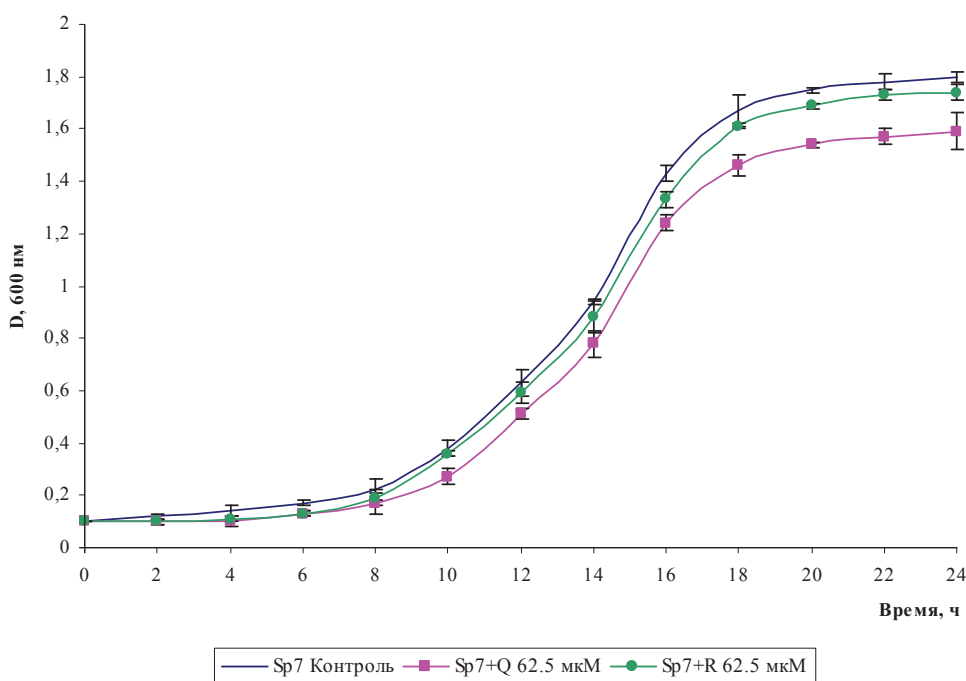


Рис. 1. Кривые роста микроорганизмов *A. brasilense* Sp7 при выращивании в присутствии кверцетина (Q) и рутина (R)

Для выявления влияния флавоноидов на макромолекулярную организацию ЛПС проводили культивирование бактерий в жидкой синтетической среде при добавлении кверцетина и рутина в диапазоне исследуемых концентраций до окончания экспоненциальной фазы роста. ЛПС выделяли из сырой, отмытой от капсулы, биомассы ЭДТА-содержащим экстрагирующим буфером с последующим электрофоретическим разделением и визуализацией результатов. Ранее установлено, что изменения электрофоретиче-

ского профиля ЛПС зачастую коррелируют с модификациями в структуре этих важных компонентов внешней мембраны, поэтому ДСН-ПААГ может быть использован для мониторинга физиологической активности фенольных соединений в отношении ЛПС бактерий [5, 19].

Полученные результаты продемонстрировали штаммовые особенности ответных реакций бактерий на флавоноиды. Так, при добавлении в среду выращивания *A. brasilense* Sp245 кверцетина, начиная с концентрации 62,5 мкМ,



наблюдалось увеличение гетерогенности в мембранном пуле ЛПС, о котором свидетельствовало появление большего числа полос по всей длине треков (рис. 2, трек 2). Для *A. brasilense* Sp7 было показано, что культивирование штамма с кверцетином в концентрации 62,5 мкМ приводило к накоплению ЛПС с длинной О-цепью, что подтверждается наличием полосы в верхней части трека (см. рис. 2, трек 5).

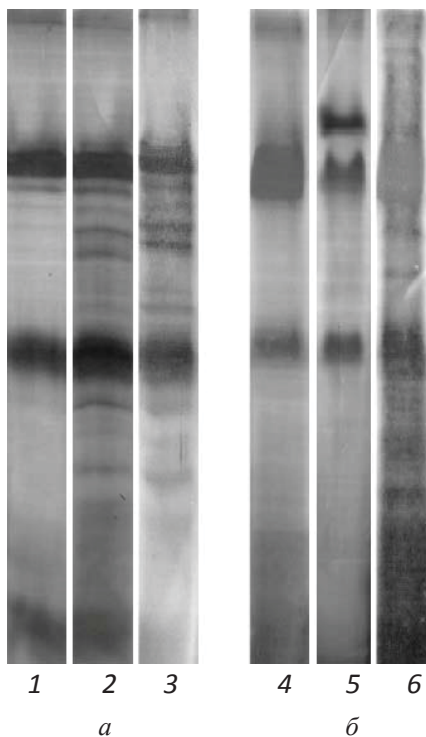


Рис. 2. Электрофореграммы препаратов ЛПС *A. brasilense* Sp 245 (а), выращенных при добавлении кверцетина 62,5 мкМ (2) и рутина 31,25 мкМ (3), и Sp7(б), выращенных в присутствии 62,5 мкМ кверцетина (5) и рутина (6), 1 и 4 – ЛПС бактерий, выращенных без флавоноидов

При аналогичном эксперименте с рутином в мембранном пуле ЛПС *A. brilense* Sp7 и Sp245 также наблюдалось увеличение гетерогенности препаратов при концентрациях флавоноида 31,25 и 62,5 мкМ соответственно (см. рис. 2, треки 3, б). Анализ электрофореграмм показывает, что характер действия обоих флавоноидов на макромолекулярную организацию ЛПС *A. brasilense* Sp245 сходен, поскольку наблюдается появление идентичных полос.

Методом ТИФА было обнаружено снижение специфичности АТ_{ЛПС_{Sp7}} в отношении клеток *A. brasilense* Sp7, выращенных в присутствии флавоноидов (рис. 3), что может свидетельствовать об изменениях в структуре гликополимеров поверхности, либо о снижении представлен-

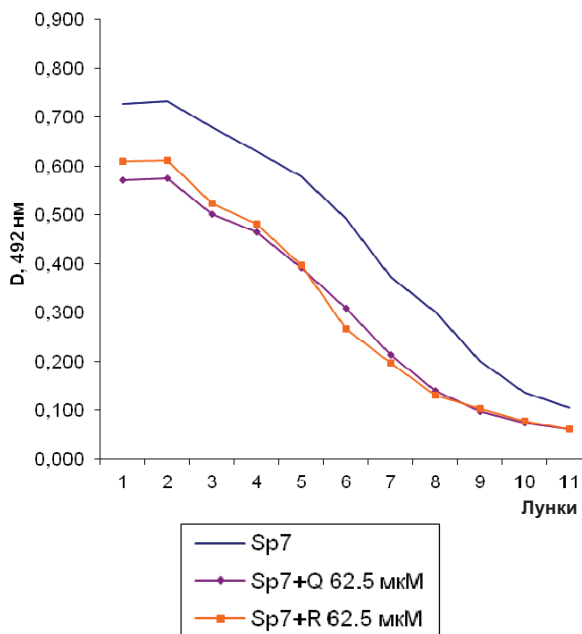


Рис. 3. Иммуноферментный анализ поверхности бактериальных клеток *A. brasilense* Sp7 и Sp245, выращенных в присутствии рутина (R), кверцетина (Q)

ности гомологичных антителам детерминант за счёт появления дополнительных компонентов. Результаты иммуноблоттинга экстрактов ЛПС *A. brasilense* Sp7, выращенных при добавлении кверцетина с использованием АТ к препарату контрольного ЛПС, выявили концентрационно-зависимое снижение сродства используемых антител к R-формам молекул (рис. 4).

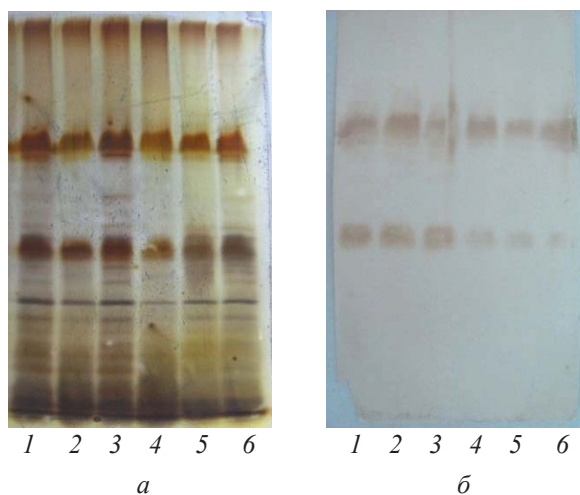


Рис. 4. Результаты электрофореза (а) и иммуноблоттинга (б) препаратов ЛПС бактерий *A. brasilense* Sp7, выращенных при добавлении кверцетина (1 – контроль; 2–6 ЛПС бактерий, выращенных в присутствии кверцетина в концентрациях: 0.7, 1, 1.3, 1.7 и 2 мМ соответственно). Иммуноблоттинг проводили с использованием антител к контрольному препарату ЛПС



Незначительные изменения были зарегистрированы методом ТИФА в антигенном составе поверхности клеток *A. brasilense* Sp245, выращенных в присутствии кверцетина и рутина (рис. 5). Результаты ИФА коррелируют с данными электрофоретического разделения (см. рис. 2, треки 2, 3), где также наблюдался слабый эффект влияния флавоноидов на макромолекулярную организацию ЛПС данного штамма.

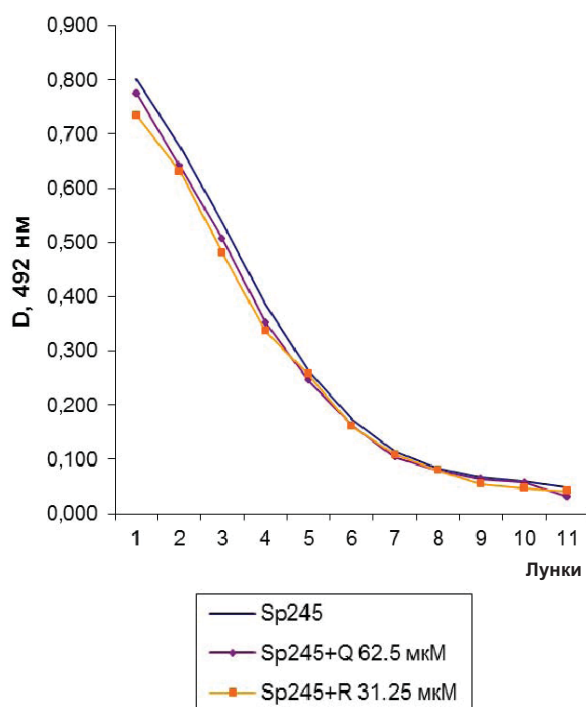


Рис. 5. Иммуноферментный анализ экстрактов внешних мембран бактерий *A. brasilense* Sp245, выращенных в присутствии рутина (R), кверцетина (Q)

Так как ЛПС являются преобладающими компонентами внешней мембраны грамотрицательных бактерий, можно предполагать, что любые изменения в их структуре могут сказываться на свойствах поверхности бактериальных клеток. Для выявления предполагаемого воздействия был выполнен анализ ЭО свойств клеточных суспензий бактерий, культивируемых при эффективных концентрациях кверцетина и рутина. В ряде работ было показано, что при специфическом взаимодействии различных агентов с бактериальными клетками происходит изменение величины ЭО параметров микробных суспензий [20, 21].

Было показано, что присутствие флавоноидов в среде выращивания приводило к снижению, по сравнению с контролем, показателя электрооптической экстинкции (ЭОЭ), что свидетельствует об изменении физико-химических характеристик поверхности бактерий.

Для удобства представления экспериментальных данных была использована величина ЭО сигнала при частоте ориентирующего поля 1000 кГц. Как видно из рис. 6, наибольшие изменения наблюдались при культивировании *A. brasilense* Sp7 в среде, содержащей флавоноиды. При выращивании данного штамма с кверцетином и рутином наблюдалось снижение показателя ЭОЭ суспензии клеток на 35 и 65% соответственно. Культивирование *A. brasilense* Sp245 в присутствии флавоноидов приводило к снижению ЭО сигнала на 13%.

Ранее было показано, что культивирование азоспирилл при добавлении кверцетина приводило к уменьшению показателя гидрофобности поверхности, что приводило к флокуляции бактериальной культуры на ранних стадиях роста [4,

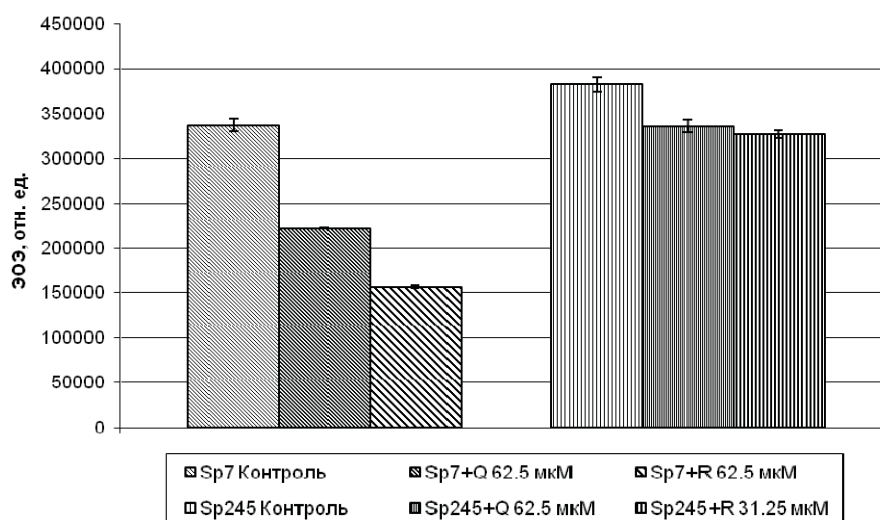


Рис. 6. Изменение электрооптических свойств клеток *A. brasilense* Sp245 и Sp7 при выращивании в присутствии кверцетина (Q) и рутина (R)



22]. Эксперименты показали, что при выращивании бактерий в присутствии кверцетина происходило снижение относительной гидрофобности поверхности бактерий, о чём свидетельствовала флокуляция бактериальной культуры, начиная с 6 часов культивирования. Выращивание исследуемых микроорганизмов в среде с рутином не оказывало влияния на гидрофобность (коэффициент солевой агрегации не отличался от контроля) и не приводило к флокуляции.

Методом микроскопии в тёмном поле было установлено, что присутствие в среде культивирования флавоноидов не оказывало влияния на подвижность микроорганизмов.

Таким образом, показано, что влияние кверцетина и рутина на бактерии *A. brasilense* Sp7 и Sp245 реализуется в изменении макромолекулярной организации и антигенного состава ЛПС, что может свидетельствовать об изменении состава и структуры этих макромолекул, а также физико-химических свойств поверхности бактерий в целом. Ответный эффект *A. brasilense* Sp245 на наличие в среде флавоноидов выражен слабее, чем у *A. brasilense* Sp7. Возможно, меньшая подверженность воздействию флавоноидов штамма *A. brasilense* Sp245 связана с иной стратегией взаимодействия микроорганизма с корнем растения-ассоцианта: он является эндофитным, т.е. проникающим внутрь корня. Большой физиологической активностью в отношении бактерий обладает кверцетин, что может быть связано со способностью молекулы из-за высокой гидрофобности прочно сорбироваться на поверхности бактериальных клеток.

Учитывая тот факт, что исследуемые флавоноиды входят в состав корневых экссудатов злаков, полученные результаты свидетельствуют о возможном участии флавоноидов в формировании ассоциации азоспирилл с корнями злаковых растений, которое реализуется в том числе и посредством модификации гликополимеров поверхности бактерий.

Благодарим канд. биол. наук Г. А. Бурыгина за выполнение ИФА и иммуноблоттинга.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-04-01658).

Список литературы

1. Steenhoudt J., Vanderleyden J. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects // FEMS Microbiol. Rev. 2000. Vol. 24. P. 487–506.
2. Kumar R., Bhatia R., Kukreja K., Behl R. K., Dudeja S. S., Narula N. Establishment of *Azotobacter* on plant roots: chemotactic response, development and analysis of root exudates of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) // J. Basic. Microb. 2007. Vol. 47, № 5. P. 436–439.
3. Fraysse N., Jabbouri S., Treilhou M., Couderc F., Poinsoot V. Symbiotic conditions induce structural modifications of *Sinorhizobium* sp. NGR234 surface polysaccharides // Glycobiology. 2002. Vol. 12, № 11. P. 741–748.
4. Каневский М. В., Петрунина А. А., Гулий О. И., Федоненко Ю. П., Коннова С. А. Исследование влияния метаболитов растений фенольной природы на свойства поверхности и состав гликополимеров бактерий *Azospirillum brasilense* SR55 // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2014. Т. 16, № 1. С. 286–290.
5. Fischer S. E., Miguel M. J., Morri G. B. Effect of root exudates on the polysaccharide composition and the lipopolysaccharide profile of *Azospirillum brasilense* Cd under saline stress // FEMS Microbiol. Lett. 2003. Vol. 219. P. 53–62.
6. Каневский М. В., Коннова С. А., Бойко С. А., Федоненко Ю. П., Игнатов В. В. Влияние кверцетина на структуру липополисахарида внешней мембраны бактерий *Azospirillum lipoferum* Sp59b // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2012. Т. 12, вып. 12. С. 50–54.
7. Sigida E. N., Fedonenko Y. P., Shashkov A. S., Zdorovenko E. L., Konnova S. A., Ignatov V. V., Knirel Y. A. Structural studies of the O-specific polysaccharide(s) from the lipopolysaccharide of *Azospirillum brasilense* type strain Sp7 // Carbohydr. Res. 2013. Vol. 380. P. 76–80.
8. Fedonenko Y. P., Zatonsky G. V., Konnova S. A., Zdorovenko E. L., Ignatov V. V. Structure of the O-specific polysaccharide of the lipopolysaccharide of *Azospirillum brasilense* Sp245 // Carbohydr. Res. 2002. Vol. 337. P. 869–872.
9. Calzuola I., Marsili V., Gianfranceschi G. L. Synthesis of antioxidants in wheat sprouts // J. Agr. Food Chem. 2004. Vol. 52, № 16. P. 5201–5206.
10. Cesco S., Mimmo T., Tonon G., Tomasi N., Pinton R., Terzano R., Neumann G., Weisskopf L., Renella G., Landi L., Nannipieri P. Plant-borne flavonoids released into the rhizosphere: impact on soil bio-activities related to plant nutrition. A review // Biol. Fert. Soils. 2012. Vol. 48. P. 123–149.
11. Konnova S. A., Makarov O. E., Skvortsov I. M., Ignatov V. V. Isolation, fractionation and some properties of polysaccharides produced in a bound form by *Azospirillum brasilense* and their possible involvement in *Azospirillum*-wheat interactions // FEMS Microbiol. Lett. 1994. Vol. 118. P. 93–99.
12. Мирошников А. И., Фомченков В. М., Иванов А. Ю. Электрофизический анализ и разделение клеток. М.: Наука, 1986. 185 с.
13. Bunin V. D., Voloshin A. G. Determination of cell structures, electrophysical parameters, and cell population heterogeneity // J. Colloid Interf. Sci. 1996. Vol. 180. P. 122–126.
14. Leive L., Shovlin V. K., Mergemhagen S. E. Physical, chemical and immunological properties of lipopoly-



- saccharides released from *Escherichia coli* by ethyl-
enaminetetraacetate // J. Biol. Chem. 1968. Vol. 243.
P. 6384–6391.
15. Lindahl M., Faris A., Wadstorm T., Hjerten S. A new
test based on salting out to measure relative surface
hydrophobicity of bacterial cells // Biochim. Biophys.
Acta. 1981. Vol. 677. P. 471–476.
 16. Hitchcock P. J., Brown T. M. Morphological heterogeneity
among *Salmonella* lipopolysaccharide chemotypes in
silver-stained polyacrylamide gels // J. Bacteriol. 1983.
Vol. 154. P. 269–277.
 17. Tsai C. M., Frasch C. E. A sensitive silver stain detect-
ing lipopolysaccharides in polyacrylamide gels // Anal.
Biochem. 1982. Vol. 119. P. 115–119.
 18. Mandal S. M., Chakraborty D., Dey S. Phenolic acids
act as signaling molecules in plant-microbe symbiose //
Plant Signal. Behav. 2010. Vol. 5. P. 359–368.
 19. Patriquin D. G., Döbereiner J., Jain D. K. Sites and
process of association between diazotrophs and gras-
ses // Can. J. Microbiol. 1983. Vol. 29, № 8. P. 900–915.
 20. Гулий О. И., Антонюк Л. П., Игнатов В. В., Игна-
тов О. В. Динамика изменений электрофизических
свойств клеток *Azospirillum brasilense* Sp7 при их
связывании с агглютинином зародыша пшеницы //
Микробиология. 2008. Т. 77, № 6. С. 782–787.
 21. Bunin V. D., Voloshin A. G. Determination of cell struc-
tures, electrophysical parameters, and cell population
heterogeneity // J. Colloid Interf. Sci. 1996. Vol. 180.
P. 122–126.
 22. Каневский М. В., Коннова С. А., Бойко А. С., Федо-
ненко Ю. П., Сигида Е. Н., Игнатов В. В. Влияние
флавоноидов на состав гликополимеров поверхно-
сти *Azospirillum lipoferum* Sp59b // Микробиология.
2014. Т. 83, № 1, 2. С. 143–151.

УДК 632.7.04/08

ОСОБЕННОСТИ ФЕНОЛОГИИ ЛИСТОГРЫЗУЩИХ ФИЛЛОФАГОВ В УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО ПРЕДУРАЛЬЯ

В. А. Симоненкова¹, А. Ю. Кулагин²

¹Оренбургский государственный аграрный университет
E-mail: simon_vik@mail.ru

²Институт биологии Уфимского научного центра РАН



Установлены фенологические особенности непарного шелко-
пряда (*Limantria dispar* Linnaeus, 1758), златогузки (*Euproctis
chrysorrhoea* Linnaeus, 1758) и зеленой дубовой листовертки
(*Tortrix viridana* Linnaeus, 1758) в условиях Южного Предуралья.
Развитие куколок непарного шелкопряда в среднем происходит
за 28 дней с накоплением суммы среднесуточных положительных
температур 598°C. Лёт имаго филлофага происходит в период с
первой декады июля по вторую декаду августа. На фазу имаго
уходит от 33 дней при накоплении 699°C суммы среднесуточных
положительных температур. Общее развитие непарного шелко-
пряда в условиях Южного Предуралья протекает в течение одно-
го года, сумма эффективных температур в условиях резко-контин-
ентального климата Оренбургской области с многочисленными
возвратными похолоданиями весны и ранними заморозками
осени составляет 1900°C в среднем. Златогузка в последние
годы создает очаги преимущественно в центральной и южной
частях Оренбургской области, которые характеризуются более
высокими температурами весенне-летнего периода, отсутстви-
ем возвратных похолоданий весны, когда гусеницы заканчивают
питание и приступают к окукливанию. На фазу гусеницы в сред-
нем уходит 40 дней при накоплении 402°C сумм среднесуточных
положительных температур воздуха. Выход гусениц из зимних
паутиных гнезд происходит в последней декаде апреля в
среднем 25 апреля. За период исследований установлено, что на
фазу куколки уходит в среднем 29 дней. Сумма среднесуточных
положительных температур воздуха составляла 579°C. Лёт имаго
продолжается в среднем 29 дней при накоплении сумм средне-
суточных положительных температур 612°C. Сумма эффективных

температур, необходимая для полного завершения жизненного
цикла, составила около 1600°C. Начало лёта бабочек зеленой ду-
бовой листовертки происходит в первой декаде июня. Массовый
лёт наблюдается спустя 10–12 дней. Лёт растягивается в сред-
нем на две недели. Сумма эффективных температур развития
зеленой дубовой листовертки – около 1140°C.

Ключевые слова: непарный шелкопряд (*Limantria dispar* Lin-
naeus, 1758), златогузка (*Euproctis chrysorrhoea* Linnaeus, 1758) и
зеленая дубовая листовертка (*Tortrix viridana* Linnaeus, 1758), фе-
нология, суммы эффективных температур.

Features Phenology Listogryzushchie Fillofagi in the South Preduralye

V. A. Simonenkova, A. Yu. Kulagin

Installed phenological characteristics of the gypsy moth (*Limantria
dispar* Linnaeus, 1758), yellowtail (*Euproctis chrysorrhoea* Linnaeus,
1758) and green oak leaf roller (*Tortrix viridana* Linnaeus, 1758) in terms
of the Southern Urals. Development of gypsy moth pupae, which aver-
ages 28 days with a daily average amount of accumulation of positive
temperatures 598°C. Adults fly fillofagi occurs during the first decade
of July to the second decade of August. The phase of adults out of
33 days in the accumulation of 699°C average daily amount of posi-
tive temperatures. The general development of the gypsy moth in the
conditions of the Southern Urals occurs within one year, the sum of
effective temperatures in conditions of extreme continental climate of
the Orenburg region with numerous recurrent coolings spring and early