

УДК 615.281:547.913+579.861.2: 620.187.3

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ЭФИРНОГО МАСЛА *ACHILLEA NOBILIS* L. И ЕГО АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ НА ИЗМЕНЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

© Э.Г. Керимли^{1*}, Э.К. Гасымов¹, С.В. Серкеров², Ю.Б. Керимов¹, Ф.Г. Рзаев¹, С.А. Мурадова¹,
С.А. Исрафилова¹

¹ Азербайджанский медицинский университет, ул. Бакиханова, 23, Баку
AZ1022 (Азербайджан), e-mail: kelvin83@list.ru

² Институт Ботаники НАН Азербайджана, Бадамдарское шоссе, 40, Баку,
AZ1073 (Азербайджан)

Методом газовой-хромато-масс-спектрометрии впервые изучен компонентный состав эфирного масла (ЭМ) *Achillea nobilis*, произрастающего в Азербайджане. В ЭМ идентифицировано 35 компонентов, из которых преобладающими являются артемизия кетон (23.706%), α -туйон (22.400%), 2-борнанон (6.367%), эвдесм-7(11)-ен-4-ол (6.321%), эвкалиптол (4.507%), кубенол (3.317%), лавандулол (2.975%), β -туйон (2.9333%), β -эвдесмол (2.702%), метилхинокиат (2,108%), терпинен-4-ол (1.715%), 1,2-лонгидион (1.313%), лимонен-6-ол, пивалат (1,188%), нерил (S)-2-метилбутаноат (1,120%), кариофиллен оксид (1.014%).

Влияние ЭМ *A. nobilis* на ультраструктурную организацию бактерий *Staphylococcus aureus* (SA) исследовали с помощью просвечивающей электронной микроскопии. Выявлено, что под действием ЭМ наблюдается нарушение избирательной проницаемости плазмолеммы, сопровождающееся диффузией мелкогранулярного осmioфильного осадка разрушенных цитоплазматических структур, что приводит к потере слоистого строения элементов стенки и к значительному уплотнению матрикса по сравнению с контрольными препаратами. Гибель бактериальных клеток наблюдалась при полном разрушении целостности всех структур, входящих в состав их стенки. Наряду с этим на ультратонких срезах обнаруживаются очаговые скопления мертвых бактериальных клеток, окруженные структурно измененными их стенок. Остатки деструктивно измененных фрагментов клеточной перегородки (КП) обнаруживаются на различных частях неразделившихся бактериальных клеток. Все перечисленное показывает, что ЭМ *A. nobilis* обладает явно выраженной антибактериальной активностью.

Ключевые слова: *Achillea nobilis*, эфирное масло, гидродистилляция, газовой-хромато-масс-спектрометрия, электронный микроскоп, *Staphylococcus aureus*, антимикробная активность, деструкция микроорганизма.

Введение

Из около ста видов рода *Achillea* L. (*Asteraceae*), произрастающих в умеренной зоне Северного полушария, преимущественно в Старом Свете, на Кавказе встречаются 21, а в Азербайджане – 14 видов [1]. Имеются сведения о химическом исследовании состава эфирного масла, флавоноидов, стерина, сесквитерпено-

Керимли Эльвин Гаджи оглы – старший преподаватель кафедры фармакогнозии, e-mail: kelvin83@list.ru

Гасымов Эльдар Кочари оглы – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, e-mail: geldar1949@gmail.com, eldar.gasimov@amu.edu.az, eldar49@ Rambler.ru

Серкеров Сираджеддин Вели оглы – доктор химических наук, профессор, заслуженный деятель науки Азербайджана, главный научный сотрудник отдела растительных ресурсов, e-mail: s.serkerov@mail.ru

Керимов Юсиф Балакерим оглы – доктор фармацевтических наук, профессор, научный консультант кафедры фармакогнозии, e-mail: ykerimov@yahoo.com

вых лактонов *A. millefolium* и др. [2–5], об активности этанольного экстракта корней *A. nobilis* против эпилепсии и антимикробной активности эфирного масла *A. eriophora* [6, 7].

Несмотря на наличие около 30 видов рода *Staphylococcus*, наиболее типовым, распространенным и оппортунистическим видом является SA [8], который, обладая высокой патогенностью для человека, вызывает гнойно-воспалительные процессы в отдельных органах и может стать причиной системных нарушений, не совместимых с жизнью [9].

Окончание на С. 94.

* Автор, с которым следует вести переписку.

Следует подчеркнуть, что хотя в последние годы основное внимание уделяется метициллин-резистентным штаммам золотистого стафилококка (*Methicillin – Resistant Staphylococcus Aureus – MRSA*), их метициллин-чувствительные аналоги (*Methicillin – Sensitive Staphylococcus Aureus – MSSA*) остаются основным видом, обнаруживаемом в очагах воспалительных процессов [10].

Планктонные и биопленочные формы *MSSA* и *MRSA* бактерий отличаются друг от друга в отношении наличия или отсутствия устойчивости, к воздействию химически модифицированного пенициллина – метициллина, в отношении устойчивости к воздействию эфирных масел они имеют много общего. Установлено, что воздействие 5% раствора масла чайного дерева полностью убивает планктонные и биопленочные формы *MSSA* и *MRSA* в течение 1 ч [11]. Масла, полученные из четырех видов лаванды, ингибировали рост как *MSSA*, так и *MRSA*, причем при любой разовой дозе степень ингибирования была очень сходной, независимо от химического состава масел или используемого штамма *SA* [12].

Исходя из вышеизложенной информации, мы изучили химический состав эфирного масла *A. nobilis* и влияние его на ультраструктурные параметры стенок, цитоплазматических элементов *MSSA* штаммов.

Экспериментальная часть

Для получения эфирного масла (ЭМ) надземная часть (300.0 г) *A. nobilis*, собранного в фазе массового цветения в июле 2018 года в окрестности села Мелхем Шемахинского района Азербайджана, использовали метод гидродистилляции. В результате получил 5 мл ЭМ (выход 1.67%).

Гербарные экземпляры определены к.б.н. С.Дж. Мустафаевой и хранятся в гербарном фонде Института ботаники академии наук Азербайджана.

Качественный и количественный состав компонентов ЭМ определен методом газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ/МС).

Условия хроматографирования: хроматограф Agilent Technologies 7890B Network GC System, 5977A inert Mass Selective Detector масс-спектрометром в качестве детектора Split/Splitless, injection-Split, Inletpressure, 8.2317 psi Split-100. Использовали 30-метровую капиллярную кварцевую колонку HP-5ms Ultra Inert с внутренним диаметром 0.25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0.25 μ m. Температурный режим колонки: начальная температура 60 °C – 10 мин. стабильно; подъем температуры 4 °C/мин до 220 °C – 10 мин стабильно; подъем температуры 1 °C/мин до 240 °C – 5 мин стабильно. Использовался растворитель – метанол, скорость газа-носителя (He) 1.2 мл/мин.

Для идентификации соединений использовали данные библиотеки стандартных масс-спектров NIST. Результаты исследования приведены в таблицах 1 и 2.

Методом диск-диффузии и серийных разведений изучена антимикробная активность ЭМ *A. nobilis*. Установлено, что 10 мл 1.7% спиртового (этанол) раствора с маслом оказывает высокую антимикробную активность на клетки штамм *SA* ATCC 25923.

Проведено изучение влияния смеси ЭМ в 10 мл 1.7% спиртово-водном растворе на изменчивость ультраструктуры клеток *SA* на электронном микроскопе. Первоначально была приготовлена густая микробная суспензия в физиологическом растворе (0.5 млрд. клеток/мл по стандарту мутности) в двух пробирках. Затем в первую опытную пробирку добавили смесь 0.17 мл ЭМ с 10 мл 1.7% спиртово-водным раствором (соотношение 1 : 1), во вторую добавили 10 мл 1.7% спиртово-водного раствора (контроль). Ввиду низкой концентрации этилового спирта в 1.7% спиртово-водном растворе и незначительного его влияния он послужил контролем.

После инкубации первой и второй пробирок в течение 15 мин их центрифугировали с целью отделения ЭМ из первой пробирки. Центрифугаты дважды промывали стерильной дистиллированной водой, полученные осадки фиксировали иммерсией в течение 15 мин смесью 2.5% раствора глютаральдегида, 2.5% раствора параформальдегида и 0.1% раствора пикриновой кислоты на фосфатном буфере (pH=7.4). Центрифугаты на ночь помещали в свежую порцию фиксатора. Следующая фиксация проводилась в 1% растворе четырехоксида осмия и в 1.5% растворе феррицианида калия на 0.1 М фосфатном буфере (pH=7.4) в течение 2 ч. После процедуры обезвоживания были приготовлены Аралдит-Эпоновые блоки, ультратонкие срезы, которые были получены с помощью ультрамикротомы Leica EM UC 7

Рзаев Фуад Гусейнали оглы – старший научный сотрудник лаборатории электронной микроскопии, e-mail: fuad.zi@mail.ru

Мурадова Севда Агарахим кызы – старший преподаватель кафедры медицинской микробиологии и иммунологии, e-mail: sevdamuradova3@gmail.com

Исрафилова Сабина Алифага кызы – ассистент кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, e-mail: atu.histology@gmail.com

(Германия). Ультратонкие срезы (50–70 нм) окрашивались 2% насыщенным водным раствором уранилацетата, затем 0.2% раствором чистого цитрата свинца («Serva») на 0.1 М растворе NaOH. Просмотр и фотографирование окрашенных и неокрашенных ультратонких срезов производилось на электронном микроскопе JEM-1400 (Япония) при ускоряющем напряжении 80–120 кВ. Фотографирование и получение морфометрических показателей структурных элементов *MSSA* осуществляли с помощью боковой цифровой камеры Veleta и программного обеспечения iTEM (Япония, Германия).

Полученные данные показывают, что в сравнении с контрольным препаратом под действием ЭМ *A. nobilis* деструктивные изменения наблюдаются во всех структурных элементах *MSSA*. В электронограммах (рис. 1А) в центре цитоплазмы *MSSA* располагается состоящий из грубофибриллярной нити ДНК (НДНК) нуклеоид (Н), по периферии которого имеются многочисленные белково-рибосомальные комплексы (БРК). Матрикс цитоплазмы отделяется от структурных элементов стенки спомощью цитоплазматической мембраны (ЦПМ). Ультраструктурная стенка бактерий состоит из внутреннего плотного, среднего светлого и наружного плотного слоев, последняя называется микрокапсулой [8].

При малом увеличении ультратонких срезов (рис. 1Б) в контрольных препаратах бактерий, находящихся на различных стадиях деления, как цитоплазматических структур, так и структур, участвующих в формировании стенок, в подавляющем большинстве бактерий не обнаруживаются видимых ультраструктурных отклонений.

Таблица 1. Компонентный состав эфирного масла *A. nobilis*

Наименование компонента	Химическая формула	Время удерживания, мин	Площадь пика, %	% схожести
2-туйен	C ₁₀ H ₁₆	7.043	0.090	95.0
β-фелландрен	C ₁₀ H ₁₆	9.092	0.477	91.0
β-цимен	C ₁₀ H ₁₄	12.321	0.278	97.0
Эвкалиптол	C ₁₀ H ₁₈ O	12.684	4.507	97.0
γ – терпинен	C ₁₀ H ₁₄	14.349	0.181	89.0
Артемизия кетон	C ₁₀ H ₁₆ O	14.579	23.706	83.0
Артемизиевый спирт	C ₁₀ H ₁₆ O	14.767	0.477	80.0
α-туйон	C ₁₀ H ₁₆ O	16.744	22.400	97.0
β-туйон	C ₁₀ H ₁₆ O	17.283	2.933	98.0
4(10)-туйон-3-ол, ацетат	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	18.418	0.100	75
2-борнанион	C ₁₀ H ₁₆ O	18.521	6.367	98.0
Лавандулол	C ₁₀ H ₁₈ O	19.754	2.975	96.0
Терпинен-4-ол	C ₁₀ H ₁₈ O	20.092	1.715	96.0
α-туйенал	C ₁₀ H ₁₄ O	20.402	0.076	75.0
α-терпинеол	C ₁₀ H ₁₈ O	20.688	0.748	90
Миртенол	C ₁₀ H ₁₆ O	20.873	0.202	77.0
Цис-карвеол	C ₁₀ H ₁₆ O	21.891	0.079	81.0
Лавандулол-ацетат	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	24.801	0.172	87.0
Кариофиллен	C ₁₅ H ₂₄	29.185	0.644	99.0
Геранил изобутират	C ₁₄ H ₂₄ O ₂	29.372	0.167	85.0
2-изопренил-4α,5,6,7-октагидронафтален	C ₁₅ H ₂₄	30.998	0.150	93.0
β- кубебен	C ₁₅ H ₂₄	31.175	0.393	96.0
Нерил(S)-2-метилбутаноат	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	32.149	1.120	90.0
d-кадинен	C ₁₅ H ₂₄	32.494	0.765	98.0
α-калакорен	C ₁₅ H ₂₀	33.065	0.275	90.0
Лонгипинокарвон	C ₁₅ H ₂₂ O	34.041	0.309	76.0
Кариофиллен оксид	C ₁₅ H ₂₄ O	34.263	1.014	93.0
Лимонен-6-ол, пивалат	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	34.772	1.188	75.0
Кубенол	C ₁₅ H ₂₆ O	35.572	3.317	83.0
β-эвдесмол	C ₁₅ H ₂₆ O	36.183	2.702	99.0
Эвдесм-7(11)-ен-4-ол	C ₁₅ H ₂₆ O	36.309	6.321	75.0
Муrolан-3,9(11)-диен-10-перокси	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	36.672	0.157	76.0
Оксид-аромадендрена	C ₁₅ H ₂₄ O	37.335	0.490	76.0
Метил хиноиат	C ₁₆ H ₂₄ O ₂	39.834	2.108	77.0
1,2-Лонгидион	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	44.400	1.313	80.0

Таблица 2. Соотношение терпеноидов в эфирном масле *A. nobilis*

Группа терпеноидов	Относительное содержание, %	
Монотерпеновые углеводороды	4	1.026
Монотерпеновые спирты	6	6.196
Монотерпеновый оксид	1	4.507
Монотерпеновые кетоны и альдегиды	5	55.482
Монотерпеновые эфиры	3	0.439
Сесквитерпеновые углеводороды	5	2.227
Сесквитерпеновые спирты	3	12.34
Сесквитерпеновые оксиды	3	1.661
Сесквитерпеновые кетоны	2	1.622
Сесквитерпеновые эфиры	3	4.416
Всего	35	89.916

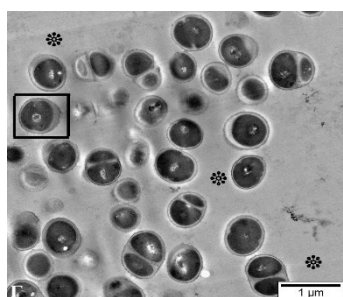
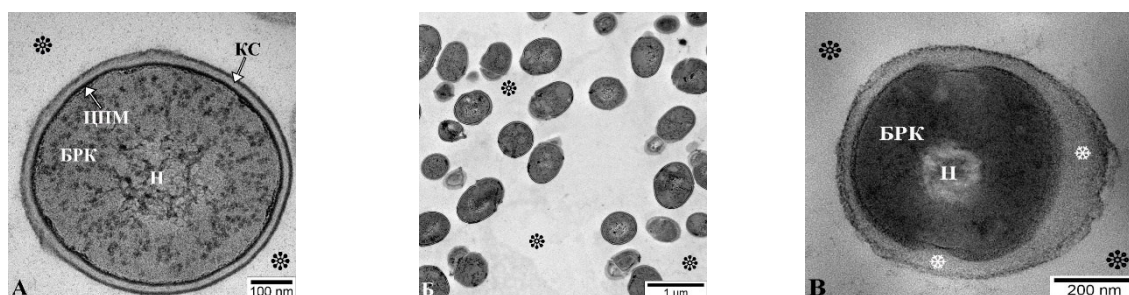


Рис. 1. Ультраструктурная характеристика структурных элементов SA в контрольных препаратах (А и Б) и при воздействии ЭМ *A. nobilis*: В – является фрагментом Г, взятым в рамку. А–Г ультратонкие срезы, электронограммы, окрашивание 2%-ным уранилацетатом и 0.2%-ным чистым цитратом свинца

При воздействии ЭМ *A. nobilis* в течение 10 мин отмечаются просветления в местах расположения нуклеоидов, гомогенизация белково-рибосомальных комплексов и осмиофильное уплотнение матрикса, нарушение структуры цитоплазматических мембран бактерий (рис. 1В). Нарушение избирательной проницаемости последних приводит к нарушению трехслойного строения структурных элементов стенки (на рисунке 1 показано снежинками) и осмиофильность матрикса (показано цветочками) становится намного выше (рис. 1Г), чем в контрольных препаратах (рис. 1Б). Выявляются неровности на наружной поверхности клеток.

По сравнению с контрольными препаратами, при воздействии ЭМ *A. nobilis* существенные изменения обнаруживаются в процессе деления *MSSA*. Как следует из рисунка 2А, в контрольных препаратах во время процесса деления, почти в середине делящихся (удлиненных) клеток формируется септальное кольцо, состоящее из элементов стенки (на рисунке 2А обозначено СК). На цитоплазматической поверхности последних формируется кольцо сжатия (Z-кольцо) (на рисунке 2Б обозначено ZK), состоящее из белка FtsZ (filament-forming temperature sensitive) и около 10 связанных с ним белков, совокупность которых формирует дивисомы, участвующие в разделении дочерних клеток. Как следует из рисунка 1В, в контрольных препаратах с участием структурных элементов обоих вышеописанных колец формируется клеточная перегородка (обозначено КП) с плотной (осмиофильной) срединной линией, гидролитический автолиз структурных элементов которых приводит к разделению дочерних бактериальных клеток. При больших увеличениях на контрольных препаратах (взяты рамку в нижнем левом углу рисунка 2В) с обеих сторон плотной срединной линии в подавляющем большинстве случаев выявляется пептидогликановые и внутренние плотные слои стенок и ЦПМ дочерних бактериальных клеток. При воздействии ЭМ *A. nobilis* в формировании КП нами отмечено наличие нижеперечисленных форм нарушений:

– отсутствие в составе КП плотной осмиофильной срединной линии (рис. 2Г); при наличии осмиофильной срединной линии, с обеих сторон не удается определить месторасположение ЦПМ и внутренних плотных слоев стенок дочерних клеток (рис. 2Д). Часто в составе КП выявляются три относительно широкие осмиофильные полосы, между которыми располагаются пептидогликановые слои стенок дочерних клеток;

– на одной из сторон КП обнаруживаются мезосомоподобные структуры, окруженные фрагментами ЦПМ и осмиофильными остатками внутреннего плотного слоя КС (на рисунке 2Е показано широкой стрелкой). Подобные структуры обнаруживаются не только в пределах КП, но и в различных частях цитоплазмы не отделившихся друг от друга дочерних клеток;

– нередко на ранних стадиях формирования СК в цитоплазме делящихся клеток обнаруживаются не связанные с ЦПМ структуры (на рисунках 2Ж и 2З показаны кончиками стрелок) по ультраструктурным параметрам схожим с КП, продемонстрированным на рисунке 2В;

– часто асимметрично расположенных КП обнаруживаются фрагменты наружного плотного слоя стенки клеток (рис. 2И);

– при внимательном осмотре ультратонких срезов наличие вновь образованных дочерних клеток с нормальными ультраструктурными параметрами ни в одном случае нами не обнаружено.

При воздействии ЭМ в результате нарушения проницаемости ЦПМ по периферии бактериальных клеток обнаруживается многочисленное мелкогранулярное осмиофильное содержимое, которое на рисунках 2Д, Е, И показано короткотелыми стрелками.

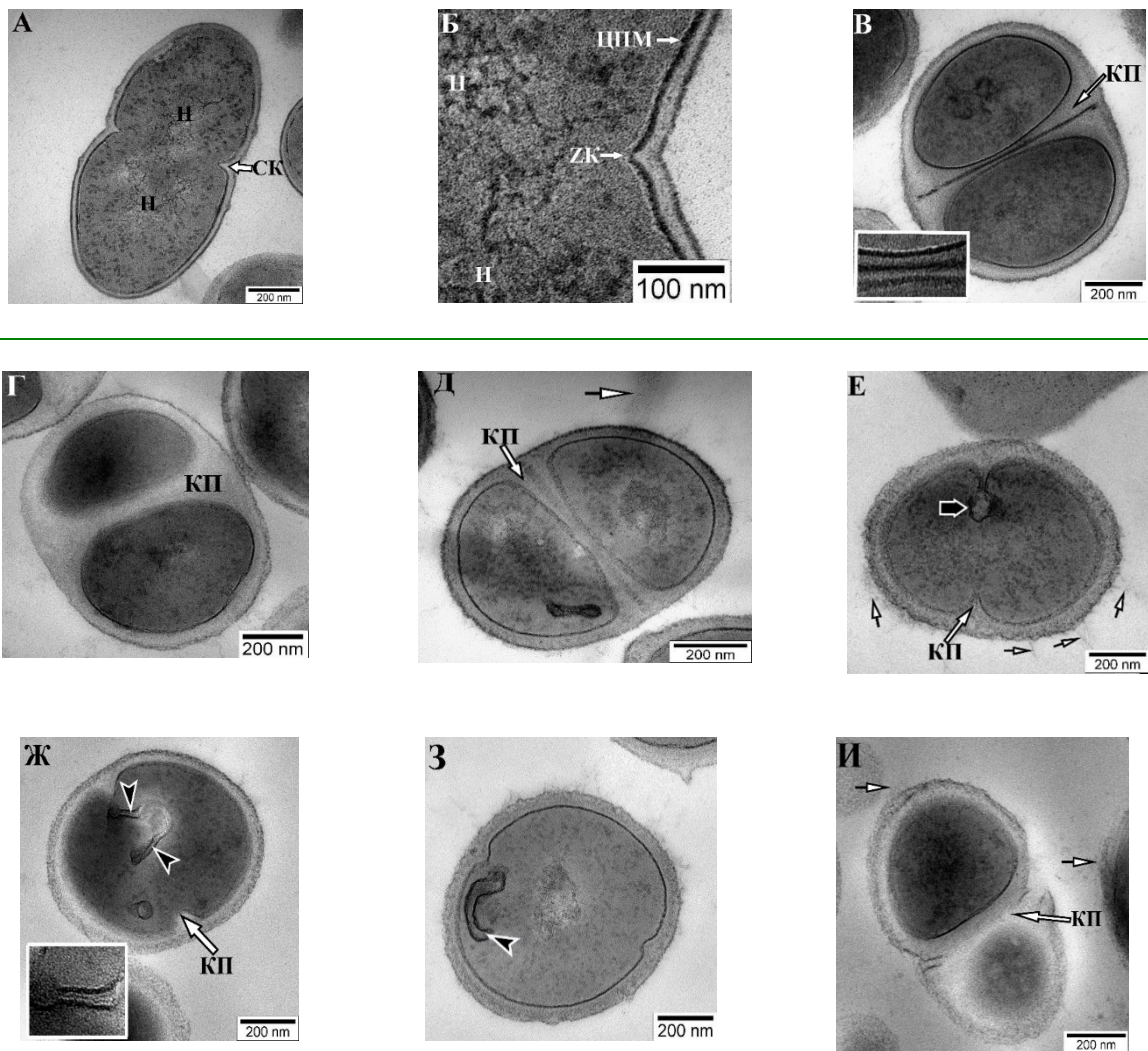


Рис. 2. Ультраструктурная характеристика деления *MSSA* в контрольных препаратах (А–В) и при воздействии эфирного масла *A. nobilis* (Г–И). Объяснение дано в тексте. А–Г – электронограммы ультратонких срезов, окрашенных 2%-ным уранилацетатом и 0.2%-ым чистым цитратом свинца

Под действием ЭМ *A. nobilis* происходят различного характера деструктивные изменения, приводящие к гибели клеток *MSSA*. В центре рисунка 3А продемонстрированы остатки погибших бактериальных клеток с различной степенью осмиофильности, и многочисленные миелоноподобные структуры (показано стрелками), что характерно для фрагментации ЦПМ, как прокариотических так и эукариотических клеток.

Было выявлено, что потеря целостности элементов стенки [муреино (пептидогликан)-тейхоатного сакулуса] бактериальных клеток приводит к опустошению (рис. 3Б) или же выбросу содержимого цитоплазмы в состав окружающего матрикса (на рисунке 3В обозначено парными стрелками). В правой верхней части продемонстрированной электронограммы обращает на себя внимания наличие почти линейно расположенных остатков мертвых бактериальных клеток (показаны звездочками), между которыми даже на ультраструктурном уровне не обнаруживается видимых свободных пространств. Полученные нами данные позволяют проследить взаимодействие различных частей мертвых бактериальных клеток при их слипании. Как видно на рисунке 3Г, на верхней и правой части слипшихся двух мертвых бактериальных клеток (показаны звездочками) находятся не мертвые, а структурно измененные бактериальные клетки в стадии адгезии стеночных структур. Если в начальной стадии слипания между мертвыми бактериальными клетками (верхней части рисунка 3Д) еще располагаются структурные элементы стенки, то в дальнейшем последние выталкиваются наружу. В независимости от количества и занимаемой площади, сформированные под действием ЭМ скопления мертвых бактериальных клеток, как правило, находятся в окружении их структурно резко измененными элементами стенок (на рисунках 3Д и 3Е показаны стрелками с длинными наконечниками).

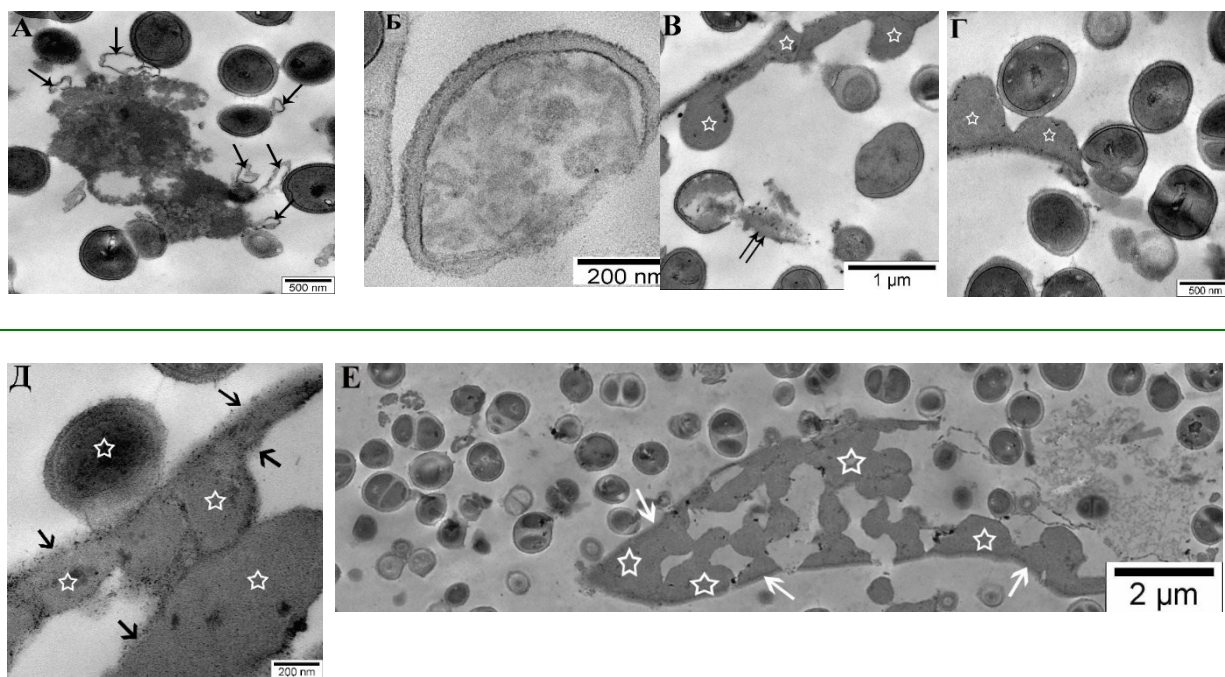


Рис. 3. Ультраструктурная характеристика деструктивных изменений клеток *MSSA* и при воздействии ЭМ *A. nobilis*. Объяснение дано в тексте. А–Е электронограммы ультратонких срезов, окрашенных 2%-ным уранилацетатом и 0.2%-ным чистым цитратом свинца

Обсуждение результатов

Состав ЭМ *A. nobilis* приведены в таблицах 1 и 2. Газово-хромато-масс-спектрометрический анализ позволил определить и идентифицировать 35 компонентов, что составляет 89.916% от общего количества масла.

Преобладающими компонентами ЭМ *A. nobilis* являются эвкалиптол (4.507%), артемизия кетон (23.706%), α -гуйон (22.400%), β -гуйон (2.933%), 2-борнанон (6.367%), лавандуллол (2.975%), терпинен-4-ол (1.715%), лимонен-6-ол пивалат (1.188%), кубенол (3.317%), β -эвдесмол (2.702%), метилхинокиат (2.108%), 1,2-лонгидион (1.313%). ЭМ *A. nobilis* по компонентному составу, отличается от других видов *Achillea* [13, 14].

Увеличение проницаемости плазматических мембран бактериальных клеток является одним из основных признаков ответа на воздействие различных антибактериальных веществ [15, 16]. Ряд авторов связывают увеличение проницаемости плазматических мембран с экспрессией белков калиевых каналов, которые, разрушая мембранный потенциал бактериальных клеток, приводят к их гибели *in situ* [17].

Среди антибактериальных средств, воздействующих на плазматические мембраны *SA*, наиболее детально исследованы сесквитерпены, в особенности фарнезол. Измерения парамагнитным резонансом электронов показали, что при воздействии фарнезола потеря ионов K^+ не сопровождается появлением ионных каналов [18, 19]. Напротив, фарнезол, проникая в стенки, разрушает целостность цитоплазматической мембраны *SA*. ЭМ *A. nobilis* содержит 12.34% сесквитерпенов и аналогичных фарнезолу. Следует отметить, что под действием ЭМ *A. nobilis* на ультраструктурном уровне проследить целостность плазматических мембран *MSSA* не представляется возможным. Наряду с проникновением мелкогранулярного осmioфильного осадка (по всей вероятности, являющегося продуктом разрушения белково-рибосомальных комплексов, а также нуклеидов) в толщу стенки и в межклеточное пространство (матрикс), может быть оценено как признак нарушения избирательной проницаемости плазмолеммы *SA*. Наличие миелиноподобных структур вокруг фрагментов клеточной стенки бактерий можно рассматривать как дополнительный признак, указывающий на нарушение целостности плазматических мембран *MSSA* под действием ЭМ *A. nobilis*.

Как было отмечено ранее, в делении *SA* участвует септальное кольцо (состоящее из структурных элементов стенки) и кольцо сжатия (*Z*-кольцо), сформированное комплексом из более 10 связанных с плазматической мембраной белков, именуемое дивисомой [20, 21].

Процесс деления бактериальных клеток в основном изучался на примере *Escherichia coli* грамотрицательных и *Bacillus subtilis* грамположительных бактерий [22, 23]. Однако в последние годы с помощью современных методов молекулярной биологии выполнено достаточное количество исследований, позволяющих предметное обсуждение процесса деления еще одного представителя грамположительных бактерий *SA* [24–27].

Одним из характерных особенностей подавляющего большинства грамположительных бактерий, в том числе *SA*, является наличие в составе их стенки ковалентно связанных пептидогликанами (муреином) двух типов тейхоевых кислот – стеночных и мембранных. Последние отличаются тем, что наряду со стеночной частью имеют и часть, расположенную в составе билипидного слоя плазматической мембраны, называемую липотейхоевой кислотой [28].

Группа авторов [24] из различных институтов США с помощью транспозонного мутагенеза генома получали мутантные линии *SA* с наличием или отсутствием (в разных вариациях) тейхоевых кислот и остатков *D*-аланина. Наряду со схемами различных мутационных изменений элементов стенки они демонстрируют электронограммы соответствующих мутантных *SA*. Было установлено, что отсутствие обоих тейхоевых кислот несовместимо с жизнью мутантов, потерявших способность к делению. В мутантных клетках *SA* с удаленными стеночными тейхоевыми кислотами в составе их КП отсутствует плотная осmioфильная срединная линия, идентичная которой нами продемонстрирована на рисунке 2Г. Отсутствие стеночной тейхоевой кислоты и остатков *D*-аланина в мутантных *SA* на электронограммах обнаруживается наличие многочисленных КП. Схожая картина наблюдается при воздействии на *SA* водного экстракта зеленого чая [29]. Участие *FtsZ* (filament-forming temperature sensitive) белка, считающегося гомологом эукариотического тубулина, в формировании кольца сжатия (*Z*-кольцо) можно считать общепринятым фактом [21, 26, 30, 31]. При этом в последние годы получен ряд новых данных в отношении вспомогательных белков, входящих в состав дивисом, принимающих непосредственное участие в процессе деления *SA*. В этом отношении следует особо выделить работы, посвященные изучению участия белка клеточного цикла Б (Cell cycle protein *GpsB*) в делении *SA*. Установлено, что в начале клеточного деления белок *GpsB*, располагаясь (*in vivo*) в середине клеток вместе с *FtsZ* [26], принимает непосредственное участие в сужении *Z*-кольца в процессе деления бактериальных клеток *SA*. Авторы путем сверхэкспрессии антисмыслового РНК *gps B* гена, уменьшив синтез *Gps B* примерно в 2.5 раза, изучали с помощью флуоресцентного микроскопа ход деления *SA* со сформировавшимся КП и без него. В первой группе КП, деформируясь уже через 30 мин, превращается в аберрантные скопления, расположенные в различных частях цитоплазмы. Во второй группе бактерий КП не формируется вообще и в их цитоплазме обнаруживаются структуры, похожие на вышеуказанные аберрантные скопления.

Необходимо подчеркнуть, что под действием ЭМ *A. nobilis* у клеток с нарушением процесса деления абберантные остатки КП расположены в различных частях цитоплазмы *MSSA*, что и продемонстрировано нами на рисунках 2Е–3.

Имеются доказательства того, что GpsB функционирует в качестве адапторного белка, который, обеспечивая взаимодействие между мембранными белками, компонентами мультипротеинового комплекса передачи сигнала (scaffolding proteins), сигнальными белками и ферментами, генерирует более крупные белковые комплексы в определенных местах в зависимости от клеточного цикла грамположительных бактерий [27].

Трансмиссионные электронно-микроскопические исследования мутантных линий *SA* с отсутствием пептидогликан-связанного белка DivIB [25] выявляют нарушение месторасположения более чем одного участка инициации формирования КП внутри делящихся клеток, выпячивание их клеточной стенки, а также лизис. Почти идентичная ультраструктурная картина продемонстрирована нами на рисунках 3А, 3Б, 3В и 3Е. Указанные авторы полагают, что DivIB требуется для молекулярного контрольно-пропускного пункта во время деления *SA*, чтобы обеспечить правильную сборку дивисомы в середине клетки и для предотвращения гидролитического роста клетки необходимого для полного разделения КП в процессе цитокинеза. Анализ полученных данных и результаты исследований мутантных линий *SA* позволяют нам присоединиться к мнению о том, что компоненты дивисом не размещаются исключительно на переднем крае перегородки, и что отдельные белки, двигаясь быстрее других, только в определенные моменты клеточного цикла входят в состав КП, нарушения которых приводят к появлению множества различных вариантов ультраструктурных отклонений структурных элементов бактериальных клеток [32].

Среди ультраструктурных нарушений, вызванных действием ЭМ *A. nobilis*, в особенности под малым увеличением электронного микроскопа, первым делом обращает на себя внимание (рис. 3Е) скопление клеток *MSSA*, а также продуктов их деятельности (матрикса), напоминающих биопленки бактериальных клеток и обеспечивающих их длительное существование [33]. На электронограммах, полученных на трансмиссионном электронном микроскопе, группы бактерий с сохранившимися ультраструктурными параметрами обычно окружаются поверхностной пленкой, состоящей из различной толщины мембраноподобных, либо аморфных структур [34] или же элементами матрикса с лизированными бактериями [35].

Однако, как отмечалось ранее, под действием ЭМ *A. nobilis* как в составе линейно расположенных, так и в составе скоплений *MSSA* клеток на ультраструктурном уровне не обнаруживаются клетки с сохранившимися ультраструктурными параметрами. Кроме того, мертвые клетки всегда окружаются структурно измененными элементами их стенки.

Последний признак исключает мертвые клетки *MSSA* из числа L-формы бактерий, основным ультраструктурным параметром которых является полное отсутствие структурных элементов, участвующих в формировании их стенок при сохранившихся плазматической мембране и органеллах [36].

Выводы

В ЭМ *A. nobilis* идентифицировано 35 компонентов, которые относятся к группе терпеновых соединений. Компоненты, содержащиеся в составе эфирного масла, составляют 89.916%.

Выявлены ультраструктурные признаки: нарушение избирательной проницаемости и целостности плазмолемм, а также элементов стенки; структурные изменения и механическая деформация КП и гибель клеток, каждый из которых в отдельности может оцениваться как выраженное бактериостатическое действие ЭМ *A. nobilis* на *MSSA*. Потеря общего отрицательного заряда тейхоевых кислот и пептидогликанов под действием ЭМ *A. nobilis* приводит к прилипанию мертвых бактериальных клеток, окруженных разрушенными структурами элементов стенки.

Наличие разнообразных форм нарушений в формировании КП могут быть связаны с различиями места расположения составных частей дивисом в момент фиксации бактерий.

Список литературы

1. Флора Азербайджана. Баку, 1952. Т. 8. С. 265.
2. Керимли Э.Г., Серкерев С.В. Исследование компонентного состава эфирного масла *Achillea millefolium* // Лики – Людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів. Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції. Харків, 2018. Т. 1. С. 98–101.

3. Серкерев С.В., Мустафаева С.Дж. Новый компонент *Achillea filipendulina* Lam. // Химия растительного сырья. 2009. №2. С. 101–103.
4. Liselotte K., Anca M., Enne P., Ursula P. Flavonoids from *Achillea nobilis* L. // Z. Naturforsch. 2003. Vol. 58c. Pp. 11–16. DOI: 10.1515/znc-2003-1-202.
5. Ahmed A.M., Shar S.A., Mohamed-Elamir F.H. A New Epimeric Sesquiterpene Lactone from *Achillea ligustica* // Rec. Nat. Prod. 2012. Vol. 6. N1. Pp. 21–27.
6. Gamal A.S., Hasan Y., Irem T., Rehab F.A., Serap A.A., Galip A. The potential anticonvulsant activity of the ethanolic extracts of *Achillea nobilis* and *Momordica charantia* in rats // Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research. 2016. Vol. 4. N3. Pp. 107–114.
7. Ghasemi Y., Khalaj A., Mohagheghzadeh A. Khosaravi A. Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea eriophora* // Chem Nat Comp. 2008. Vol. 44. N5. Pp. 663–665. DOI: 10.1007/s10600-008-9160.
8. Рыбальченко О.В., Бондаренко В.М., Добрица В.П. Атлас ультраструктуры микробиоты кишечника человека. Л., 2008. 112 с.
9. Bassetti M., Trecarichi E.M., Mesini A., Spanu T., Giacobbe D.R., Rossi M., Shenone E., Pascale G.D., Molinari M.P., Cauda R., Viscoli C., Tumbarello M. Risk factors and mortality of healthcare-associated and community-acquired *Staphylococcus aureus* bacteraemia // Clin. Microbiol. Infect. 2012. Vol. 18. N9. Pp. 862–869.
10. Monaco M., Pimentel de Araujo F., Cruciani M., Coccia E., Pantosti A. Worldwide epidemiology and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* // Curr Top Microbiol Immunol. 2016. Vol. 409. Pp. 21–56. DOI: 10.1007/82_2016_3.
11. Brady A., Loughlin R., Gilpin D., Kearney P., Tunney M. In vitro activity of tea-tree oil against clinical skin isolates of methicillin-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci growing planktonically and as biofilms // J. Med. Microbiol. 2006. Vol. 55. N10. Pp. 1375–1380. DOI: 10.1099/jmm.0.46558-0.
12. Roller S., Ernest N., Buckle J. The antimicrobial activity of high-necrodane and other la-vender oils on methicillin-sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* (MSSA and MRSA) // J. Altern Complement Med. 2009. Vol. 15. N3. Pp. 275–279. DOI: 10.1089/acm.2008.0268.
13. Chalchat J.C., Gorunovic M.S., Petrovic S.D. Aromatic plants of Yugoslavia. I. Chemical composition of oils of *Achillea millefolium* L. ssp. *Pannanica* (Scheele) Hayak A. *crithmifolia* W. et K., *serbica* Nym. and *A. tanacetifolia* ali. // Journal of Essential Oil Research. 1999. Vol. 11. N3. Pp. 306–310. DOI: 10.1080/10412905.1999.9701140.
14. Küçükbay F.Z., Kuyumcu E., Arabaci T. The essential oil of *Achillea boissieri* Hausskn ex Boiss. // Chemistry of Natural Compounds. 2010. Vol. 46. N25. Pp. 824–825. DOI: 10.1007/s10600-010-9758-3.
15. Jung W.K., Koo H.C., Kim K.W., Shin S., Kim S.H., Park Y.H. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. // Appl. Environ. Microbiol. 2008. Vol. 74. N7. Pp. 2171–2178. DOI: 10.1128/AEM.02001-07.
16. Chino T., Nukui Y., Morishita Y., Moriya K. Morphological bactericidal fast-acting effects of peracetic acid, a high-level disinfectant, against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in tubing // Antimicrob. Resist. Infect. Control. 2017. Vol. 6. P. 122. DOI: 10.1186/s13756-017-0281-1.
17. Ohmizo C., Yata M., Katsu T. Bacterial cytoplasmic membrane permeability assay using ion-selective electrodes // J. Microbiol Methods. 2004. Vol. 59. N2. Pp. 173–179. DOI: 10.1016/j.mimet.2004.06.008.
18. Togashi N., Inoue Y., Hamashima H., Takano A. Effects of two terpene alcohols on the antibacterial activity and the mode of action of farnesol against *Staphylococcus aureus* // Molecules. 2008. Vol. 13. N12. Pp. 3069–3076. DOI: 10.3390/molecules13123069.
19. Inoue Y., Togashi N., Hamashima H. Farnesol-Induced Disruption of the *Staphylococcus aureus* Cytoplasmic Membrane // Biol. Pharm. Bull. 2016. Vol. 39. N5. Pp. 653–656. DOI: 10.1248/bpb.b15-00416.
20. Nanninga N. Cytokinesis in prokaryotes and eukaryotes: common principles and different solutions // Microbiol. and Mol. Biol. Rev. 2001. Vol. 65. N2. Pp. 319–333. DOI: 10.1128/MMBR.65.2.319-333.2001.
21. Вишняков И.Е., Борхсениус С.Н. Белок ftsz и цитокinesis у бактерий // Цитология. 2007. Т. 49. №5. С. 421–429.
22. Vedyaykina A.D., Ponomareva E.V., Khodorkovskii M.A., Borchsenius S.N., Vishnyakov I.E. Mechanisms of Bacterial Cell Division // Microbiology. 2019. Vol. 88. N3. Pp. 245–260. DOI: 10.1134/S0026261719030159.
23. Hammond L.R., White M.L., Eswara P.J. γ IVa la DivIVA! // J. Bacteriol. 2019. Vol. 201. N21. e00245-19. DOI: 10.1128/JB.00245-19.
24. Santa Maria J.P. Jr., Sadaka A., Moussa S.H., Brown S., Zhang Y.J., Rubin E.J., Gilmore M.S., Walker S. Compound gene interaction mapping reveals distinct roles for *Staphylococcus aureus* teichoic acids // Proc Natl Acad Sci USA. 2014. Vol. 111. N34. Pp. 12510–12515. DOI: 10.1073/pnas.1404099111.
25. Bottomley A.L., Kabli A.F., Hurd A.F., Turner R.D., Garcia-Lara J., Foster S.J. *Staphylococcus aureus* DivIB is a peptidoglycan-binding protein that is required for a morphological checkpoint in cell division // Mol. Microbiol. 2014. Vol. 94. N5. Pp. 1041–1064. DOI: 10.1111/mmi.12813.
26. Eswara P.J., Brzozowski R.S., Viola M.G., Graham G et al. An essential *Staphylococcus aureus* cell division protein directly regulates FtsZ dynamics // Elife. 2018. Vol. 7. e38856. DOI: 10.7554/eLife.38856.
27. Cleverley R.M., Rutter Z.J., Rismondo J., Corona F. et al. The cell cycle regulator GpsB functions as cytosolic adaptor for multiple cell wall enzymes // Nat. Commun. 2019. Vol. 10 (1). P. 261. DOI: 10.1038/s41467-018-08056-2.
28. Потехина Н.В. Тейхоевые кислоты актиномицетов и других грамположительных бактерий // Успехи биологической химии. 2006. Т. 46. С. 225–278.

29. Hamilton-Miller J.M., Shah S. Disorganization of cell division of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by a component of tea (*Camellia sinensis*): a study by electronmicroscopy // FEMS Microbiol. Lett. 1999. Vol. 176. N2. Pp. 463–469.
30. Bi E.F., Lutkenhaus J. FtsZ ring structure associated with division in *Escherichia coli* // Nature. 1991. Vol. 354. Pp. 161–164.
31. Osawa M., Erickson H.P. Liposome division by a simple bacterial division machinery // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2013. Vol. 110. N27. Pp. 11000–11004.
32. Lund V.A., Wacnik K., Turner R.D., Cotterell B.E., Walther C.G., Fenn S.J., Grein F., Wollman A.J., Leake M.C., Olivier N., Cadby A., Mesnage S., Jones S., Foster S.J. Molecular coordination of *Staphylococcus aureus* cell division // Elife. 2018. Vol. 21. N7. e32057. DOI: 10.7554/eLife.32057.
33. Маянский А.Н., Чеботарь И.В. Стафилококковые биоплёнки: структура, регуляция, отторжение // Журнал микробиол. 2011. №1. С. 101–108.
34. Рыбальченко О.В., Бондаренко В.М., Орлова О.Г. Ультраструктура биопленок при внутривидовом и межвидовом взаимодействии условно патогенных бактерий // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2014. №1. С. 1–11.
35. Archer N.K., Mazaitis M.J., Costerton J.W., Leid J.G., Powers M.E., Shirtliff M.E. *Staphylococcus aureus* biofilms: properties, regulation and roles in human disease // Virulence. 2011. Vol. 2. N5. Pp. 445–459. DOI: 10.4161/viru.2.5.17724.
36. Claessen D., Errington J. Cell Wall Deficiency as a Coping Strategy for Stress. Trends // Microbiol. 2019. Vol. 27. N12. Pp. 1025–1033. DOI: 10.1016/j.tim.2019.07.008.

Поступила в редакцию 5 марта 2020 г.

После переработки 25 октября 2020 г.

Принята к публикации 25 октября 2020 г.

Для цитирования: Керимли Э.Г., Гасымов Э.К., Серкерев С.В., Керимов Ю.Б., Рзаев Ф.Г., Мурадова С.А., Исрафилова С.А. Изучение состава эфирного масла *Achillea nobilis* L. и его антибактериальное влияние на изменение ультраструктуры клеток *Staphylococcus aureus* // Химия растительного сырья. 2021. №1. С. 93–104. DOI: 10.14258/jcrpm.2021017446.

Karimli E.G.^{1*}, Kasumov E.K.¹, Serkerov S.V.², Kerimov Yu.B.¹, Rzayev F.G.¹, Muradova S.A.¹, Israfilova S.A.¹ STUDY OF THE COMPOSITION OF ESSENTIAL OIL *ACHILLEA NOBILIS* L. AND ITS ANTIBACTERIAL INFLUENCE ON CHANGE OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* CELL ULTRASTRUCTURE

¹ Azerbaijan Medical University, ul. Bakikhanova, 23, Baku AZ1022 (Azerbaijan), e-mail: kelvin83@list.ru

² Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Azerbaijan, Badamdarskoe shosse, 40, Baku AZ 1073 (Azerbaijan)

The component composition of the *Achillea. nobilis* essential oil, which grows in Azerbaijan, was studied for the first time by the gas-chromato-mass spectrometry method. In the essential oil, 35 components are identified, of which the predominant are artemisia ketone (23.706%), thujone 22.400%, 2-bornanone (6.367%), eudesm-7(11)-en-4-ol (6.321%), eucalyptol (4.507%), cubenol (3.317%), lavandulol (2.975%), β -thujone (2.933%), β -eudesmol (2.702%), methyl hinokiate (2.108%), terpinen-4-ol (1.715%), 1,2-longidione (1.313%), limonene-6-ol, pivalate (1.188%), neryl (S)-2-methylbutanoate (1.120%), caryophyllene oxide (1.014%).

The effect of *A. nobilis* essential oil on the ultrastructural organization of bacteria (*S. aureus*) was studied using transmission electron microscopy. It was revealed that under the influence of essential oil, a violation of the plasma permeability of the plasma membrane is observed, accompanied by diffusion of the fine-grained osmiophilic precipitate of the destroyed cytoplasmic structures, which leads to the loss of the layered structure of the wall elements and to a significant compaction of the matrix in comparison with the control preparations. The death of bacterial cells was observed with complete destruction of the integrity of all structures that make up their wall. Along with this, on ultrathin sections, focal accumulations of dead bacterial cells are found, surrounded by structurally changed elements of their walls. The remains of destructively altered fragments of CP are found on various parts of unseparated bacterial cells. All of the above shows that the essential oil of *A. nobilis* has a pronounced antibacterial activity.

Keywords: *Achillea nobilis*, essential oil, hydrodistillation, gas-chromato-mass spectrometry, electron microscope, *Staphylococcus aureus*, antimicrobial activity, destruction microorganism.

References

1. *Flora Azerbaydzhana*. [Flora of Azerbaijan]. Baku, 1952, vol. 8, p. 265. (in Russ.).
2. Kerymly E.G., Serkerov S.V. *Lıky – Lyudyni. Suchasni problemy farmakoterapii I pryznachennya likars'kykh zasobiv. Materialy II Mizhnarodnoi naukovo-praktychnoi konferentsii*. [Lyki - Lyudini. Modern problems of pharmacotherapy and prescription of drugs. Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference]. Kharkiv, 2018, vol. 1, pp. 98–101. (in Russ.).
3. Serkerov S.V., Mustafayeva S.Dzh. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2009, no. 2, pp. 101–103. (in Russ.).
4. Liselotte K., Anca M., Enne P., Ursula P. *Z. Naturforsch.*, 2003, vol. 58c, pp. 11–16. DOI: 10.1515/znc-2003-1-202.
5. Ahmed A.M., Shar S.A., Mohamed-Elamir F.H. *Rec. Nat. Prod.*, 2012, vol. 6, no. 1, pp. 21–27.
6. Gamal A.S., Hasan Y., Irem T., Rehab F.A., Serap A.A., Galip A. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 2016, vol. 4, no. 3, pp. 107–114.
7. Ghasemi Y., Khalaj A., Mohagheghzadeh A. Khosaravi A. *Chem. Nat. Comp.*, 2008, vol. 44, no. 5, pp. 663–665. DOI: 10.1007/s10600-008-9160.
8. Rybal'chenko O.V., Bondarenko V.M., Dobritsa V.P. *Atlas ul'trastruktury mikrobioty kishhechnika cheloveka*. [Atlas of the ultrastructure of the human intestinal microbiota]. Leningrad, 2008, 112 p. (in Russ.).
9. Bassetti M., Trecarichi E.M., Mesini A., Spanu T., Giacobbe D.R., Rossi M., Shenone E., Pascale G.D., Molinari M.P., Cauda R., Viscoli C., Tumbarello M. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2012, vol. 18, no. 9, pp. 862–869.
10. Monaco M., Pimentel de Araujo F., Cruciani M., Coccia E., Pantosti A. *Curr Top Microbiol Immunol.*, 2016, vol. 409, pp. 21–56. DOI: 10.1007/82_2016_3.
11. Brady A., Loughlin R., Gilpin D., Kearney P., Tunney M. *J. Med. Microbiol.*, 2006, vol. 55, no. 10, pp. 1375–1380. DOI: 10.1099/jmm.0.46558-0.
12. Roller S., Ernest N., Buckle J. *J. Altern Complement Med.*, 2009, vol. 15, no. 3, pp. 275–279. DOI: 10.1089/acm.2008.0268.
13. Chalchat J.C., Gorunovic M.S., Petrovic S.D. *Journal of Essential Oil Research*, 1999, vol. 11, no. 3, pp. 306–310. DOI: 10.1080/10412905.1999.9701140.
14. Kücükbay F.Z., Kuyumcu E., Arabaci T. *Chemistry of Natural Compounds*, 2010, vol. 46, no. 25, pp. 824–825. DOI: 10.1007/s10600-010-9758-3.
15. Jung W.K., Koo H.C., Kim K.W., Shin S., Kim S.H., Park Y.H. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, vol. 74, no. 7, pp. 2171–2178. DOI: 10.1128/AEM.02001-07.
16. Chino T., Nukui Y., Morishita Y., Moriya K. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.*, 2017, vol. 6, p. 122. DOI: 10.1186/s13756-017-0281-1.
17. Ohmizo C., Yata M., Katsu T. *J. Microbiol Methods*, 2004, vol. 59, no. 2, pp. 173–179. DOI: 10.1016/j.mimet.2004.06.008.
18. Togashi N., Inoue Y., Hamashima H., Takano A. *Molecules*, 2008, vol. 13, no. 12, pp. 3069–3076. DOI: 10.3390/molecules13123069.
19. Inoue Y., Togashi N., Hamashima H. *Biol. Pharm. Bull.*, 2016, vol. 39, no. 5, pp. 653–656. DOI: 10.1248/bpb.b15-00416.

* Corresponding author.

20. Nanninga N. *Microbiol. and Mol. Biol. Rev.*, 2001, vol. 65, no. 2, pp. 319–333. DOI: 10.1128/MMBR.65.2.319-333.2001.
21. Vishnyakov I.Ye., Borkhsenius S.N. *Tsitologiya*, 2007, vol. 49, no. 5, pp. 421–429. (in Russ.).
22. Vedyaykina A.D., Ponomareva E.V., Khodorkovskii M.A., Borchsenius S.N., Vishnyakov I.E. *Microbiology*, 2019, vol. 88, no. 3, pp. 245–260. DOI: 10.1134/S0026261719030159.
23. Hammond L.R., White M.L., Eswara P.J. *J. Bacteriol.*, 2019, vol. 201, no. 21, e00245-19. DOI: 10.1128/JB.00245-19.
24. Santa Maria J.P. Jr., Sadaka A., Moussa S.H., Brown S., Zhang Y.J., Rubin E.J., Gilmore M.S., Walker S. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, vol. 111, no. 34, pp. 12510–12515. DOI: 10.1073/pnas.1404099111.
25. Bottomley A.L., Kabli A.F., Hurd A.F., Turner R.D., Garcia-Lara J., Foster S.J. *Mol. Microbiol.*, 2014, vol. 94, no. 5, pp. 1041–1064. DOI: 10.1111/mmi.12813.
26. Eswara P.J., Brzozowski R.S., Viola M.G., Graham G et al. *Elife*, 2018, vol. 7, e38856. DOI: 10.7554/eLife.38856.
27. Cleverley R.M., Rutter Z.J., Rismondo J., Corona F. et al. *Nat. Commun.*, 2019, vol. 10 (1), p. 261. DOI: 10.1038/s41467-018-08056-2.
28. Potekhina N.V. *Uspekhi biologicheskoy khimii*, 2006, vol. 46, pp. 225–278. (in Russ.).
29. Hamilton-Miller J.M., Shah S. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1999, vol. 176, no. 2, pp. 463–469.
30. Bi E.F., Lutkenhaus J. *Nature*, 1991, vol. 354, pp. 161–164.
31. Osawa M., Erickson H.P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013, vol. 110, no. 27, pp. 11000–11004.
32. Lund V.A., Wacnik K., Turner R.D., Cotterell B.E., Walther C.G., Fenn S.J., Grein F., Wollman A.J., Leake M.C., Olivier N., Cadby A., Mesnage S., Jones S., Foster S.J. *Elife*, 2018, vol. 21, no. 7, e32057. DOI: 10.7554/eLife.32057.
33. Mayanskiy A.N., Chebotar' I.V. *Zhurnal mikrobiol.*, 2011, no. 1, pp. 101–108. (in Russ.).
34. Rybal'chenko O.V., Bondarenko V.M., Orlova O.G. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN*, 2014, no. 1, pp. 1–11. (in Russ.).
35. Archer N.K., Mazaitis M.J., Costerton J.W., Leid J.G., Powers M.E., Shirtliff M.E. *Virulence*, 2011, vol. 2, no. 5, pp. 445–459. DOI: 10.4161/viru.2.5.17724.
36. Claessen D., Errington J. *Microbiol*, 2019, vol. 27, no. 12, pp. 1025–1033. DOI: 10.1016/j.tim.2019.07.008.

Received March 5, 2020

Revised October 25, 2020

Accepted October 25, 2020

For citing: Karimli E.G., Kasumov E.K., Serkerov S.V., Kerimov Yu.B., Rzayev F.G., Muradova S.A., Israfilova S.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2021, no. 1, pp. 93–104. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2021017446.