

ПОДСЕКЦИЯ «АНТРОПОЛОГИЯ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Исследование роста лицевого скелета видов *Cercocebus torquatus* (Cercopithecinae, Primates) и *Procolobus verus* (Colobinae, Primates) методами геометрической морфометрии

Евтеев Андрей Алексеевич

(НИИ и Музей антропологии МГУ, Россия, Москва, evteandr@gmail.com)

При изучении ростовых процессов черепа приматов большое внимание уделяется поиску «модулей» - онтогенетически или функционально интегрированных частей общей структуры. В данной работе рассматривается гипотеза об относительной независимости ростовых процессов отдельных костей лицевого черепа: верхнечелюстной, предчелюстной и носовой. Основой для гипотезы являются два момента: 1) различное эмбриологическое происхождение костей; 2) различное время их активного роста в онтогенезе. Для проверки гипотезы использована выборка черепов обезьян двух видов, резко отличающихся по форме черепа, а также диетой и образом жизни. 13 точек на 25 черепах *C. torquatus* и 16 черепах *P. verus* различного пола и возраста были оцифрованы с помощью трехмерного дигитайзера. Полученные данные анализировались с помощью программ Morphologika и MorphoJ.

Основным феноменом при изучении общей конфигурации точек является удлинение «морды» в течение постнатального онтогенеза, особенно выраженное у взрослых самцов *C. torquatus*. Однако этот процесс связан исключительно с ростом верхнечелюстной кости, тогда как рассмотрение тенденций роста предчелюстной кости дает другую картину. Своеобразным строением отличаются молодые особи *C. torquatus*, у которых premaxilla относительно очень широкая, а ее лобные отростки – укорочены. В то же время взрослые особи *C. torquatus* больше похожи на взрослых *P. verus*. Размер носовых костей изменяется в тесной связи с изменением размеров верхнечелюстной кости, но при этом наблюдается резкая внутривидовая изменчивость их формы, не зависящая от пола и возраста.

Можно предположить, что рост верхнечелюстной кости связан в первую очередь с изменением общих размеров тела, а не с функциональными потребностями, так как удлиненная форма лицевого отдела самцов *C. torquatus* снижает биомеханическую эффективность их челюстного аппарата. В то же время своеобразие формы предчелюстной кости молодых *C. torquatus* может быть связано с необходимостью обработки очень твердой пищи уже в самом раннем возрасте и размещением очень крупных резцов. Носовые кости, которые жестко связаны с верхнечелюстной костью швом, во многом «следуют» за ростовыми процессами последних. Однако некоторые особенности вариации их верхней части формируются независимо от воздействия соседних костей.

Половые различия в микроэлементном составе волос у монгольских детей и подростков

Зорина Дарья Юрьевна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, zorinadaria.10.3@gmail.com)

В настоящее время вследствие техногенной деятельности на разных территориях человек может сталкиваться с аномальными концентрациями химических элементов. Поэтому большое значение приобретают исследования концентраций элементов в волосах населения, проживающего в условиях естественной геохимической среды и анализ их естественной физиологической изменчивости, в частности, изучение влияния пола на микроэлементный статус.

Материалом для работы послужили образцы волос сельских школьников 7-18 лет, обследованных в ходе антропоэкологической экспедиции в двух сомонах Баян-Хонгорского аймака Монголии в 1991 году. Территории проживания обследованных удалены от источников техногенного загрязнения, продукты питания в основном имеют местное

происхождение. Концентрации микроэлементов определялись методом инструментального нейтронно-активационного анализа.

Изучена половозрастная изменчивость концентраций 24 элементов в волосах 129 мальчиков и 243 девочек. Рассмотрены эссенциальные (Zn, Fe, Se, Co, Cr, As), условно эссенциальные (Br, Sc, Au, Ag, Hf), токсичные и потенциально токсичные (Hg, Ba, Sb, U, Th) элементы. Были также проанализированы макроэлементы Ca, La и 6 элементов-лантаноидов. Половые различия выявлены для 18 элементов.

Исходя из биологической роли цинка, особый интерес вызывают различия в его концентрации в волосах мальчиков и девочек. Большее содержание цинка найдено в волосах мальчиков для всех рассматриваемых возрастов, что может свидетельствовать о возможном цинкдефицитном состоянии в изучаемой популяции.

Содержание железа, селена, золота, серебра, гафния, ртути, бария, сурьмы, тория, кальция, церия, неодима имело тенденцию к более высоким значениям в волосах девочек по сравнению с мальчиками. Половые различия, выражающиеся в больших концентрациях у мальчиков, демонстрировал хром (после 12 лет), мышьяк, бром, уран, самарий. Концентрации кобальта, скандия, лантана, европия, иттербия, лютеция в волосах детей закономерностей, связанных с полом, не обнаруживали.

Таким образом, можно констатировать наличие половой изменчивости микроэлементного состава волос монгольских детей. Полученные результаты находят свое применение в антропоэкологических исследованиях.

**Гониометрическая характеристика осанки тела школьников г. Архангельска и
Архангельской области**
Иванова Елена Михайловна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, elena.ivanova27@gmail.com)

На протяжении десятилетий ведутся исследования осанки тела с позиций медицины, психологии, педагогики, выясняются причины нарушений, но, по всей видимости, явление «осанки тела» столь комплексно, что невозможно оценить его с узкой точки зрения. Используя антропологический подход, мы пытаемся внести свою лепту в исследование осанки, рассматривая ее, в первую очередь, как морфологический признак. Было показано многими авторами, что осанка значительно влияет на общее здоровье человека. Поэтому, исследуя физическое развитие разных групп населения, следует учитывать и особенности осанки тела. В нашем исследовании осанки тела мы используем методику гониометрии, предложенную в 1973 г. В.А. Гамбурцевым - измерение углов отклонения позвоночника от вертикальной оси. Обследование проводится в сагиттальной плоскости, инструмент измеряет углы наклона от шейного до поясничного отделов, а также угол наклона таза. Таким образом, получаются 5 углов, позволяющих описать осанку. Это делает гониометрию чрезвычайно удобной при работе в экспедиционных условиях, когда необходимо за короткий срок обследовать как можно большее количество человек. Целью данной работы стало изучение состояния осанки в трех детских группах методом гониометрии. В исследовании, проведенном в 2008-2010 гг. приняли участие школьники от 7 до 18 лет: 1304 девочки и 1337 мальчиков из Москвы, Архангельска и поселков Архангельской области. Программа обследования включала стандартную антропометрию (50 показателей), измерение углов наклона позвоночника и таза по методу В.А. Гамбурцева (1973). Наличие деформаций спины, ее формы выявлялись визуально. Наибольшие различия между школьниками всех городов обнаружены по углу отклонения от вертикали верхнешейного отдела позвоночника, половых различий по этому показателю не выявлено. Анализ половозрастной динамики углов наклона позвоночника и таза показывает изменение с возрастом всех гониометрических показателей. Увеличиваются углы наклона верхнегрудного отдела позвоночника, крестца, таза. У мальчиков Архангельска отмечена большая сутулость при слабом поясничном прогибе, тогда как у девочек Архангельска всех возрастов наблюдается меньшая сутулость при большей величине поясничного лордоза. У сельских школьников осанка более выпрямленная по сравнению с городскими. Тем не менее, частота

встречаемости сколиозов во всех группах увеличивается с возрастом от 3 до 45% и от 8 до 50% у мальчиков и девочек соответственно.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №10-06-00582-а и гранта Ректора МГУ «Антропологический мониторинг населения Архангельской области. Проект к юбилею М.В.Ломоносова».

Антропоэкологические связи на примере женских выборок чукчей и эскимосов

Казеева Анна Юрьевна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, kazeeva.a@gmail.com)

На примере женских групп эскимосов и чукчей проведена оценка вариабельности антропологических признаков с учетом места проживания и степени давления экстремальности среды. Изученные материалы были собраны в результате антропологических экспедиций Института этнографии АН СССР и Института антропологии МГУ, работавших под руководством В.П. Алексеева и Т.И.Алексеевой в разные годы с 1970 по 1982. В работе экспедиции использована стандартная методика, принятая в Институте антропологии МГУ.

В морфометрический анализ вошли данные по женским группам чукчей и эскимосов в возрасте от 18 до 59 лет. Всего исследовано 315 человек (249 чукчей и 66 эскимосов).

Согласно градации, предложенной Т.И. Алексеевой, все обследованные населенные пункты Чукотки и Камчатки объединены в четыре группы, соответствующие различным ландшафтно-экологическим районам, которым присвоены условные интегральные оценки (в баллах).

В целом женская выборка эскимосов большей частью принадлежит ко 2-й группе, тогда как у чукчей, благодаря большей численности и наполняемости по климатогеографическим группам, мы можем сравнить между собой все три группы. И чукчи и эскимосы, входящие в группу 2 характеризуются высокими терморегуляционными свойствами, которые достигаются на уровне морфологии (в данном случае сходные показатели морфологических признаков, характеризующие костно-мышечную компоненту). При анализе всех трех климатогеографических групп выясняется, что при примерно одинаковом весе тела и длине тела, обхватные размеры уменьшаются от первой к третьей группе (статистически достоверные различия обнаружены между первой и третьей группой), диаметры эпифизов длинных костей увеличиваются от первой к третьей группе (достоверные различия обнаружены между первой и третьей группой), ширина плеч возрастает от первой к третьей группе при уменьшении ширины таза (достоверные различия обнаружены между первой и третьей группой). Жировой компонент обнаруживает такую же тенденцию. Таким образом, арктический адаптивный тип на примере, главным образом, чукчей в морфологическом плане несколько меняется при движении с севера на юг от более массивного варианта к менее массивному. Как указывала Т.И. Алексеева, более массивный вариант связан с наиболее экстремальными условиями обитания.

Цифровые методы суммирования изображений. Применение в антропологии и интерпретация результатов

Локк Кристина Эдвионовна

(НИИ и Музей Антропологии МГУ, Россия, Москва, lokkkrisi@rambler.ru)

Мысленно можно суммировать отдельные образы в некое обобщенное представление о множестве объектов, однако данное обобщение субъективно и нам трудно поделить такой информацией с окружающими. Существуют методы, которые позволяют избежать указанных проблем. В настоящее время есть 2 наиболее распространенных метода получения суммарного изображения на основе индивидуальных фотографий. Первый – метод обобщенного (составного) портрета, предложенный Френсисом Гальтоном еще в 1878 году и получивший в 2008 году при участии автора статьи компьютерное решение, второй – метод усредненного портрета, разработанный Дэвидом Перретом с соавторами в 1990-х годах.

Данная работа посвящена сопоставлению двух методов. Каждый из этих методов имеет определенную специфику, которую нужно учитывать при подборке изображений, предназначенных для обобщения. Важно соблюдать методические требования для получения адекватного результата.

Автор приходит к выводу, что результаты суммирования разными методами вполне сравнимы. Однако обобщенный по методу Гальтона портрет несет в себе больше информации, но из-за этого она труднее воспринимается. Рассматриваемые методы в определенной степени дополняют друг друга: метод Гальтона хорошо работает на выборках малого и среднего размера, а метод Перрета с соавторами наилучшим образом покажет себя на выборках среднего и большого размера. Метод, предложенный Гальтоном, является по логике своей более простым и вследствие этого более универсальным, он не ограничивает исследователя в объекте обобщения, можно легко суммировать изображения различных частей тела в разнообразных ракурсах, выбрав точки совмещения в соответствии с поставленной задачей. Программное обеспечение метода Перрета в указанных случаях пришлось бы каждый раз изменять, при использовании компьютерной версии метода Гальтона этого не требуется.

Цифровые методы суммирования изображений - достаточно легкий и быстрый способ для визуального выявления реально существующих межгрупповых различий. Обобщенный портрет может направить исследователя в его поиске и указать на те морфологические области или признаки, которым стоит уделить наибольшее внимание при количественном или качественном описании.

Оценка жировоголожения у современных мальчиков Москвы и Архангельска методами антропометрии и биоимпедансометрии

Пермякова Екатерина Юрьевна, Анисимова А. В.

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, ekaterinapermyakova@gmail.com)

Изучение жировоголожения у современных детей и подростков представляет особый интерес для антропологии и медицины. Это связано с увеличением в последние годы количества лиц с избыточным весом. Целью данного исследования является оценка подкожного жировоголожения методами антропо- и биоимпедансометрии (БИА) и сравнение этих показателей у городских детей, проживающих в различных экологических условиях.

Материалом послужили данные комплексного антропологического обследования мальчиков 7-17 лет городов Москвы (N=577) и Архангельска (N=710). Данные собраны лабораторией аукологии НИИ и Музея антропологии МГУ при непосредственном участии авторов в 2005-2009 гг. и 2009-2010 годах соответственно.

Динамика средних значений длины тела говорит об отсутствии значимых различий по этому признаку между московскими и архангельскими мальчиками на рассматриваемом возрастном интервале. Для веса и индекса массы тела (ИМТ) наблюдается иная тенденция: школьники Москвы по средним показателям превосходят своих северных сверстников (исключение составляют лишь 11-летние дети), а также опережают их по годовым прибавкам. Различия между группами достоверны на промежутке 13-16 лет ($p < 0,05$) и сглаживаются к 17 годам.

Результаты анализа характеристик подкожного жировоголожения выявляют следующие тенденции: по средним значениям толщины жировых складок (на спине, на бицепсе и животе) московские мальчики уступают архангельским только в возрасте 11 и 17 лет. Жировая складка на трицепсе меньше у московских мальчиков лишь в возрасте 17 лет. Кроме того, также как и для веса тела и ИМТ, наблюдается запаздывание приростов у архангельских детей.

Оценка жировой массы тела, полученная по формуле М. Слотер (1988) на основе антропометрии и методом БИА дает одинаковый результат. Мальчики Москвы имеют большие значения во всех возрастах, кроме 11 и 17 лет. Тощая масса тела также достигает больших значений у московских школьников, согласно двум используемым для оценки состава тела методам.

Вопреки ожиданиям, разные уровни урбанизации не приводят к различиям по длине тела, оказывая влияние на подкожное жиросотложение вопреки холодовому стрессу. Мы наблюдаем более высокий уровень жиросотложения у детей Москвы, что может быть связано с менее подвижным образом жизни и различиями в питании.

Имеющиеся данные позволяют нам выдвинуть предположение о более раннем начале полового созревания у мальчиков Москвы. Ростовой скачок у мальчиков сопровождается снижением жировой массы, что отчетливо прослеживается на графиках в виде антипика, и у москвичей наступает на год раньше.

Выражаем глубокую благодарность научному руководителю д.б.н., профессору Елене Зиновьевне Годиной. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №10-06-00582-а и гранта Ректора МГУ «Антропологический мониторинг населения Архангельской области. Проект к юбилею М.В.Ломоносова».

Non – metric features on human skulls from the cemetery of Cossack time Staiky *Dolzhenko Yuri*

(Department of Bioarchaeology, Institute of Archaeology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Ukraine, Kyiv, yuriy_dolzhenko@ukr.net)

Anthropology of the Late Medieval population of Ukraine is still poorly studied. The appearance of each new series that dates back to this time causes considerable interest among researchers. New material from Staiky cemetery helps to enhance our understanding of Middle Dnieper region anthropological structure in the Cossack times.

The cemetery of Staiky is located on the right high bank of the River Dnipro, Kagarlyk district, Kiev oblast, Ukraine. 26 burials dated to 1632-1634 were excavated in 2006 by A. Petrauskas. Cranial and postcranial skeletal study of Staiky was made by I. Potekhina, pathologies were studied by O. Kozak.

In the current research two different cranioscopic programs were used to characterize 24 Staiky skulls (13 males, 11 females). The first one represents the ethnic meanings of the cranioscopic features (Kozintsev, 1987, 1988, 1999) while the second – the fenetic line of the research (Movsesyan, 2005).

According to five distinctive features of cranioscopic system Staiky series finds certain combinations of signs that prove its European origin. However, we should pay attention to the sixth feature – index of cross-palatal suture (CPS). Its small percentage allows to make a conclusion about certain anthropological admixture which should be established. Cluster analysis and corrected Mahalanobis distance (DC2) placed the Staiky sample in the largest cluster, which includes Slavic and Finnish series. At the same time it has the moderate similarity (distance 2,788) with two Russian series. The Principal Component Analysis does not find any analogies to Staiky.

The fenetic analysis which was conducted using 12 discrete-varying characteristics with the involvement of 13 East European groups have not found any analogies to Staiky group as well. The most close to Staiky is the “Arsenal” group from Kiev, but the distance is still rather big (6,658).

Thus, two different methods of the epigenetic analysis show certain originality of Staiky skulls and their special position among synchronous East European series involved in the analysis.

ПОДСЕКЦИЯ «БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Исследование плюрипотентности гексаплоидных эмбриональных стволовых клеток (6п-ЭСК) на модели инъекционных химер

Белокрылова Дина Олеговна

(НГУ, Россия, Новосибирск, belokrylova_dina@mail.ru)

В отличие от 2п-ЭСК, плюрипотентность линий ЭСК повышенной ploидности до сих пор остаётся малоизученной. С другой стороны, присутствие полиплоидных клеток в составе различных органов человека (мозг, печень, мускулатура) подчёркивает актуальность исследования плюрипотентных свойств полиплоидных ЭСК.

Целью данной работы было оценить плюрипотентность гибридных линий 6п-ЭСК *Tef-t8* и *Tef-t16*, полученных слиянием маркированных GFP 2п-ЭСК и 4п фибробластов, в условиях *in vitro* и *in vivo*. Для конструирования химерных эмбрионов использован инъекционный протокол. В двух независимых экспериментах 10-12 клеток линий *Tef-t8* и *Tef-t16* были введены в бластоцисты мышей линии C57Bl/16. Далее эмбрионы культивировали по стандартной методике 24, 48 и 72 ч. Раз в сутки проверялось состояние культуры, стадия развития, наличие GFP-сигнала. Подсчитывались маркированные клетки, отмечалась их локализация. В качестве контроля использовались интактные бластоцисты мышей линии C57Bl/16.

Показано, что через 4-5 ч после инъекции все бластоцисты несут введенные клетки во внутренней клеточной массе (ВКМ), через двое суток маркированные клетки вытесняются или мигрируют из ВКМ. Мы инъекцировали большее число (до 20-25) клеток клона *Tef-t8* в бластоцисты мышей линии C57Bl/16. 50 бластоцист, несущих GFP-сигнал в ВКМ, были трансплантированы 5 реципиентным самкам, 4 (80%) из которых забеременели. Диссекция камер матки на 12 *dpc* показала, что 2 эмбриона из 29 (7%) содержат GFP-позитивные клетки в составе тела эмбриона и в экстраэмбриональных органах. Однако оба эмбриона на момент диссекции были мертвы.

Таким образом, большинство введенных 6п-ЭСК исчезает (скорее всего, погибает) в течение ближайших 2-3 суток после инъекции в бластоцисту. Введение избытка гибридных клеток приводит к тому, что их потомки могут включаться в зародышевые листки и провизорные органы. Однако такие химерные эмбрионы нежизнеспособны. По всей видимости, данные гибридные линии 6п-ЭСК не способны давать химер. Их плюрипотентность в условиях *in vivo* значительно ниже, чем у аналогичных гибридных линий 4п-ЭСК.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 096-04-01369), гранта Zeiss (2009).

Влияние различной окраски стенок и дна сосуда на количество меланофоров у *Xenopus laevis*

Джапова Вита Валентиновна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, vita.dzhap@mail.ru)

Пигментная система бесхвостых амфибий и ее основной структурный элемент – дермальный меланофор – рассматривается как удобная и наглядная модель онтогенеза. Меланофор способен митотически делиться, дифференцироваться, накапливая меланин, и перераспределять его в дисперсное или агрегированное состояние, адаптивно меняя окраску всего животного. Способность к делению и перераспределению пигмента связаны таким образом, что в состоянии дисперсии клетка может митотически делиться, а в состоянии агрегации нет. В свою очередь распределение пигмента зависит от условий освещения, создаваемых падающим и отраженным светом.

Исследовали влияние различных сочетаний окраски стенок и дна сосудов на формирование меланофоров у личинок лягушки *Xenopus laevis*. В эксперименте использовали личинок от момента вылупления до начала метаморфоза кожи на стадиях 30 –

57 по таблицам нормального развития Ньюкупа и Фабера. Животных содержали при температуре +18 - +22 °С при искусственном освещении 40 л продолжительностью 12 часов в сутки в стеклянных банках с цветными стенками и дном в разных сочетаниях, использовали 3 цвета: белый, серый, черный, всего 9 вариантов.

Спустя 2 месяца был произведен подсчет меланофоров на боковом участке туловища животных. В работе приведены данные количества меланофоров на 55 стадии развития. Количество меланофоров у животных, которых содержали в емкостях с черными стенками вдвое выше, чем у обитателей сосудов с белыми стенками, притом, что дно было одинакового цвета. Наименьшее количество меланофоров отмечено на полностью белом фоне (белые стенки, белое дно) – 90±4 шт; наибольшее – на полностью черном фоне (черные стенки, черное дно) – 240±23 шт.

Результаты эксперимента позволяют сделать вывод, что цвет стенок играет решающую роль в формировании количества меланофоров.

Формирование сфероидов из стромальных клеток жировой ткани мыши

Зурина Ирина Михайловна¹, Горкун А. А.², Кошелева Н.В.^{1,2}

(¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, ²НИИ Общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, Россия, izurina@gmail.com)

В стремительно развивающейся регенеративной медицине, как при аутологических, так и при аллогенных трансплантациях за счет удобства получения и широкого дифференцировочного потенциала все чаще используют стромальные клетки жировой ткани (Bunnell et al., 2008). Ткани и органы представляют собой трехмерные структуры, в которых клетки формируют контакты между собой и с межклеточным матриксом. 3D культивирование стромальных клеток открывает новые возможности для изучения механизмов межклеточного взаимодействия и дифференцировки. Методами 3D культивирования недавно были получены сфероиды из стромальных клеток жировой ткани (СКЖТ) человека, показавшие положительный терапевтический эффект на модели ишемии нижней конечности мыши (Bhang et al., 2011). Целью нашего исследования стало изучение формирования сфероидов из СКЖТ мыши.

СКЖТ мышей линий C57BL/6J (GFP⁺) и C57BL/6-Tg(АСТЬ-EGFP)10sb/J (GFP⁺) выделяли по стандартному протоколу (Zuk et al., 2001) и до 3 пассажа вели в монослойной культуре. Сфероиды получали, используя 3-7 дневное культивирование в «висячей капле» при различных начальных плотностях клеток: 25, 50 и 100тыс.кл./мл.

Были получены сфероиды из СКЖТ от GFP⁺ и GFP⁺ линий мышей, при сокультивировании в «висячей капле» СКЖТ от мышей разных линий формировались сфероиды, состоящие из GFP⁺ и GFP⁺ клеток. Все сформированные сфероиды сохраняли жизнеспособность (окрашивание иодидом пропидия), их поверхностная зона состояла из двух-трех слоев вытянутых клеток. На третий день рыхлые сфероиды диаметром 80-110мкм формировались только при плотности 25тыс.кл./мл. При плотности 50тыс.кл./мл к третьему дню не наблюдали формирование сфероидов, сфероиды диаметром 120-140мкм формировались на 4-5 день. При плотности 100тыс.кл./мл сфероиды формировались к 5-7 дню культивирования, их диаметр составлял 150-180мкм.

Есть данные, что из СКЖТ человека при плотности 600тыс.кл./мл за 3 суток ротационного культивирования формируются сфероиды диаметром 250мкм (Bhang et al., 2011). Изучение динамики формирования сфероидов и развитие методики 3D культивирования СКЖТ может иметь важное фундаментальное и прикладное значение.

Влияние повышенного уровня тиреоидного гормона на развитие позвоночника и хвостового плавника большого африканского усача *Labeobarbus brevicephalus* (Cyprinidae, Teleostei)

Капитанова Дарья Викторовна, Шкиль Ф.Н.

(Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Россия, Москва, darya-kapitanova@yandex.ru)

Тиреоидная ось играет ключевую роль в регуляции онтогенеза костистых рыб, принимая участие в метаморфных преобразованиях, переходе от личиночной к ювенильной стадии и т.д. Однако ее участие в регуляции скелетогенеза остается малоизученным. Задача настоящего исследования - оценка влияния высоких концентраций тиреоидного гормона (ТГ) на развитие позвоночника и хвостового плавника костистых рыб на примере большого африканского усача *Labeobarbus brevicephalus*. Для решения поставленной задачи нами проведено сравнительное описание развития позвоночника и хвостового плавника личинок и молоди усача, выращенных в двух гормональных режимах: 1) повышенное содержание ТГ и 2) контроль – естественный уровень ТГ. Описание проводилось на тотальных препаратах, окрашенных ализарином красным (кальцинированные ткани) и альцианом синим (хрящевые ткани) с последующим просветлением согласно общепринятой методике.

Было показано, что повышенный уровень ТГ в целом не оказывает влияния на порядок и сроки появления структур позвоночника, но может приводить к нарушениям их развития: к изменению формы и относительных размеров, слиянию с соседними структурами, полной или частичной редукции. Наиболее чувствительной к повышению уровня ТГ является хвостовая часть позвоночника: гемальные и нейральные дуги позвонков (редукция, изменение формы и размера отростков), центр третьего хвостового позвонка (слияние с соседними позвонками, редукция с нарушением формирования соответствующих дуг), эпуралия и последняя гипуралия хвоста (полная или частичная редукция). Наименее чувствительна передняя часть позвоночника: элементы веберова аппарата и другие структуры, связанные с первыми четырьмя позвонками. В ряде случаев было отмечено нарушение межтканевых взаимодействий между нейральным комплексом и третьей и четвертой нейральными дугами и укорочение восходящего отростка *intercalarium*. Кроме того, обнаружена высокая изменчивость чувствительности к ТГ на организменном уровне: от почти полного отсутствия реакции до многочисленных нарушений развития различных структур. Таким образом, показана важная роль ТГ в регуляции онтогенеза позвоночника и хвостового плавника *L. brevicephalus*. Изменение уровня ТГ может вызывать отклонения в развитии, отражающиеся на дефинитивной морфологии рыб. Выявлена высокая изменчивость чувствительности к ТГ как отдельных структур позвоночника, так и организмов в целом.

Влияние мелатонина на динамику кальция в клетках первичной культуры гепатоцитов разновозрастных крыс

Клюс Ксения Андреевна, Беспятых А. Ю.

(НГУ, ФЕН, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, ksplus@bk.ru)

Одной из составляющих процесса старения считают ослабление межклеточных коммуникаций, регулирующих согласованную работу однотипных клеток организма. Способность гормона мелатонина влиять на ритмическую организацию многих процессов от клеточного до организменного уровня, доказанный факт снижения его концентрации с возрастом, и выявленные геропротекторные эффекты при применении этого гормона позволяют предположить, что одним из механизмов геропротекторного действия может быть восстановление кооперативных свойств в клеточных сообществах за счет синхронизации внутриклеточных процессов. Задачей нашей работы было выявить влияние мелатонина (Mel) на динамику колебания Ca^{2+} в клетках первичной культуры гепатоцитов крыс разного возраста, как на наиболее интегрированный показатель активности внутриклеточных процессов.

В опыте использовались полученные плотные (10^6 кл/мл) первичные культуры молодых (3-7 мес) и старых (≈ 2 года) крыс и редкие (10^5 кл/мл) культуры, моделирующие потерю кооперативных свойств гепатоцитов при старении. Уровень Ca^{2+} определяли по его связыванию со специфическим флуоресцентным красителем Fluo-3 AM. Регистрацию интенсивности свечения каждой отдельной клетки регистрировали на конфокальном микроскопе Carl Zeiss двумя способами: (1) прижизненно (около 80 серий с интервалом от 10-12 секунд, общее время съемки 1 стекла ≈ 20 мин) и (2) изготавлялись фиксированные с 5-10 минутным интервалом в течение часа препараты культур. Сопоставляли динамику изменения уровня Ca^{2+} в гепатоцитах контрольных культур и культур после импульсной обработки Mel (100 нМ).

1) Для плотных контрольных культур молодых крыс была выявлена синхронность для 89% клеток (КК=0,212), в редких культурах- 51-71% (КК=0,211-0,217), при этом синхронность наблюдалась в кластерах клеток, территориально обособленных, при обработке данных культур гормоном синхронизацию наблюдали в 100% клеток. При обработке Mel культур старых крыс синхронизировалось до 72% клеток (КК=0,5-0,84), тогда как в контроле наблюдалась полная асинхронность.

2) При сравнении контрольных и обработанных Mel культур разновозрастных крыс наблюдалось увеличение относительного уровня флуоресценции, что доказывает положительное влияние гормона на обмен Ca^{2+} .

Таким образом, показано, что гормон мелатонин способен повышать степень синхронности изменения уровня ионов Ca^{2+} в гепатоцитах в культурах молодых и старых крыс.

Выражаю благодарность научному руководителю Бурлаковой О. В. за содействие и поддержку (профессиональную и личную).

мРНК гена половой плазмы Germes шпорцевой лягушки способна проникать через щелевые контакты из ооцита в фолликулярные клетки

Кондукторова Виктория Владимировна

(Институт Молекулярной Биологии РАН, Россия, Москва, virgo584@yandex.ru)

У *Xenopus* линия первичных половых клеток закладывается в результате наследования цитоплазматического материала материнского происхождения, называемого половой плазмой. Половая плазма состоит из РНК, митохондрий, ЭР и половых гранул. В нашей лаборатории было показано, что Germes является маркером половой плазмы. Изучая локализацию белка Germes в яичниках шпорцевой лягушки с помощью иммунной сыворотки, мы обнаружили любопытный факт: белок Germes в значительном количестве содержится в фолликулярных клетках (ФК), окружающих растущие ооциты (Оо). Упоминания в литературе о локализации в ФК генов-маркеров половой плазмы нами не обнаружено. ФК формируются из ткани яичника и не являются потомками клеток зародышевой линии. Мы попытались ответить на вопрос: возможен ли транспорт мРНК Germes в фолликулярный слой из ооцита, где, как известно, он экспрессируется.

Для проверки возможности транспорта мРНК генов-маркеров половой плазмы из Оо в ФК был использован конструктор, содержащий Germes, слитый с зеленым флуоресцентным белком (GFP-Germes), мРНК которого можно отличить в эксперименте от эндогенного транскрипта Germes. В ооциты ст. VI с сохраненным фолликулярным слоем инъецировали 1-2 нг мРНК GFP-Germes и мРНК GFP в качестве неспецифической контрольной мРНК. Ооциты инкубировали *in vitro* в течение суток, затем фолликулярные оболочки механически отделяли от Оо, с последующим выделением тотальной РНК из обоих видов ткани. С помощью метода ОТ-ПЦР с праймерами к GFP было показано, что мРНК GFP-Germes присутствует как в Оо, так и в ФК, тогда как мРНК GFP - только в Оо. Таким образом, удалось показать возможность транспорта мРНК с молекулярным весом 1800 пн из ооцита в ФК. Причем проницаемость для мРНК оказалась высокоселективной для гена половой плазмы Germes, в отличие от мРНК GFP.

Транспорт осуществляется, по-видимому, через щелевые контакты. Прохождению таких молекул способствует наличие градиента электрической напряженности. Осуществляется ли

обнаруженный в эксперименте транспорт Germes из ооцита в ФК и обратно в нормальном развитии, и каково его значение? Результаты дают толчок к новым исследованиям.

Исследования финансировались РФФИ грантом № 09-04-01444.

Регуляторная роль механических напряжений в морфогенезе и экспрессии генов структурных белков в эксплантатах эмбриональных тканей *Xenopus laevis*.

Кремнёв Станислав Валерьевич¹, Никишин Д.А.², Глазалева Н.С.¹

(¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва,

²Институт биологии развития имени Н.К.Кольцова РАН, Россия, Москва, s.kremnyov@googlemail.com)

Для изучения феномена механозависимости морфогенеза мы использовали модель сжатого двойного эксплантата крыши бластоцеля *Xenopus laevis*. Цейтраферная съемка согнутых двойных эксплантатов крыши бластоцеля показала, что в течение 2-3 ч культивирования наблюдается самоусиление навязанной кривизны. На вогнутой (сжатой) и выгнутой (растянутой) сторонах эксплантатов форма клеток заметно отличается. На вогнутой стороне эпителиальные клетки удлиняются, при этом их апикальная поверхность сокращаются, в то время как на выгнутой стороне клетки сохраняют свою изначально кубическую форму. Как морфометрический параметр мы использовали апикальный индекс (AI): отношение длины клетки к ширине апикального домена. К 2 часам устанавливается максимальная разница AI вогнутой и выгнутой сторон. При помощи витальной липофильной краски FM 4-64FX было обнаружено, что по сравнению с выгнутой стороной на вогнутой стороне идет активный эндоцитоз, видимо приводящий к апикальному сокращению.

Для установления механизма изменения формы клеток в ответ на сжатие мы использовали ингибиторы работы цитоскелета и белков, регулирующих его работу. Как оказалось, миозин II является наиболее важным участником в изменении формы клеток, как при апикальном сокращении, так и при удлинении эпителиальных клеток.

Также мы исследовали влияние растяжения на изменение экспрессии генов структурных белков. Растяжение двойных эксплантатов вентральной эктодермы в течение 70 мин приводит к существенному увеличению (на 20%) экспрессии гена claudin4 – главного белка плотных контактов. Интересно, что в тоже время экспрессия второго компонента плотных контактов occludin уменьшается на 6-7%. Что касается внутриклеточных компонентов плотных контактов, то экспрессия ZO-1 падает на 2-3%, ZO-2 и ZO-3, вероятно, не изменяется. Также исследовали влияние растяжения на экспрессию комплекса кадгериновых контактов. Экспрессия E-cadherin падает примерно на 3-4%, β -catenin падает на 7% процентов, экспрессия catenin-p120 вероятно не изменяется. Данные результаты позволяют сделать предположения о регуляционной роли механических напряжений в дифференциальной клеточной адгезии, которая в свою очередь является одним из движущих факторов пространственного расположения эмбриональных закладок.

Характеристика культуры клеток Сертоли, полученных от половозрелых мышей Малолина Екатерина Андреевна¹, Кулибин А.Ю.²

(¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия ²Институт биологии развития имени Н.К.Кольцова РАН, Москва, Россия, kate-malolina@mail.ru)

Показано, что недифференцированные, пролиферирующие клетки Сертоли (КС) неонатальных мышей при трансплантации в семенники взрослых мышей способны формировать структуры, подобные семенным канальцам, и поддерживать сперматогенез. Дифференцированные неделящиеся КС половозрелых животных такими свойствами не обладают. Однако есть данные, что в условиях *in vitro* такие КС вновь приобретают способность к делению, и возможно, при трансплантации поведут себя подобно неонатальным КС. Цель работы – охарактеризовать культуру КС взрослых мышей для последующих трансплантационных экспериментов. Суспензии клеток семенников 2-мес. мышей линии C57Bl/6 высаживали в концентрации 3.5×10^5 к-к/см² в среде MEM/F12 с

добавлением 1% FBS, инкубировали при 37°C, через сутки после начала культивирования убрали все неприкрепившиеся клетки. Культуру фиксировали на 3, 5, 8, 13, 20-е сут и анализировали с помощью иммуноцитохимии. Число клеток в культуре увеличивалось: от 4.6×10^3 к-к/см² на 5-е сут до 9.4×10^3 к-к/см² на 20-е сут. Увеличивалось число vimentin⁺-клеток: с 75.8% на 3-и сут до 93.4% на 20-е сут (vimentin – белок цитоскелета КС, но также и перитубулярно-мышечных клеток). Экспрессия Wt1, маркера КС *in vivo*, исчезала у части КС, определяемых по морфологическим признакам, уже на 3-и сут фиксации, что, возможно, связано с культивированием КС при 37°C, а не при 33°C (как в семенниках). Тем не менее, число Wt1⁺-КС в культуре достоверно росло: с 31.1% на 3-и сут до 57.8% на 20-е сут, с 8-х сут Wt1⁺-КС формировали колонии. Анализ двойного окрашивания на vimentin и BrdU показал, что содержание vimentin⁺/BrdU⁺-клеток увеличивается с 21% на 3-и сут до 28.7% на 13-е сут, а к 20-м сут снижается (19%), что, вероятно, связано с контактным торможением пролиферации. Двойное окрашивание на Wt1 и BrdU показало, что большая часть BrdU⁺-клеток является также Wt1⁺, что достоверно подтверждает пролиферацию КС. В культуре присутствовали cytokeratin 18⁺-клетки (cytokeratin 18⁺ – маркер недифференцированных КС), однако их процент со временем падал, немногие из них включали BrdU. Таким образом, отработаны условия культивирования КС, стимулирующие их пролиферацию. Оптимальный срок для трансплантации КС – 13-е сут, когда их пролиферация достигает максимума.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 10-04-00816.

Восстановление индуцирующих свойств культуры клеток волосяного сосочка

Мягкова Екатерина Павловна

(Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН, Россия, Москва, katerina.myagkova@gmail.com)

Клетки волосяного сосочка индуцируют образование волосяного фолликула, однако их индуцирующие способности теряются при культивировании. Частично их восстановить можно путем реконструкции ниши волосяного сосочка в культуре. В данной работе для этого использовали различные факторы роста и цитокины, компоненты межклеточного матрикса и различные способы культивирования (монослойные и сферические культуры). В качестве меры индуцирующих способностей использовалось окрашивание на щелочную фосфатазу — маркер клеток волосяного сосочка.

С увеличением числа пассажей интенсивность окрашивания клеток снижалась. Замедлить это явление позволяло добавление в среду BMP6 и витамина D3, использование среды, кондиционированной кератиноцитами, сорбирование компонентов межклеточного матрикса: аггрекана и фибронектина, а также использование сферических культур. При этом получение сфероидов из суспензии клеток поздних пассажей приводило к восстановлению интенсивности окраски.

Добавление компонентов межклеточного матрикса приводило к лучшим результатам по сравнению с факторами роста. В дальнейшем планируется развивать это направление, используя компоненты базальной мембраны и 3D культивирование.

Временные параметры онтогенеза и способы его регуляции

Налобин Денис Сергеевич

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, d.s.nalobin@gmail.com)

Изучение времени как естественнонаучной и философской категории имеет долгую, более 25 столетий, историю. Это один из основных параметров развития, заслуживающий пристального внимания. Представляется интересным каким образом возможно контролировать биологическое время, т.е. скорость онтогенеза. Целью данной работы является экспериментальное изменение темпов развития низших позвоночных. Были поставлены следующие задачи: (1) анализ параметров эмбрионального развития при разных температурных условиях; (2) анализ параметров эмбрионального развития зародышей после их взаимодействия в оптическом диапазоне; (3) исследование эффекта дистантного взаимодействия при изменении оптических параметров среды между взаимодействующими

объектами с помощью прецизионных оптических систем, применяемых в космонавтике: призмные угольные световозвращатели (УСВ). Работа выполнена на вьюне *Misgurnus fossilis* L. (Cobitidae, Cypriniformes, Teleostei, Pisces). Икру получали стандартным методом гормональной стимуляции. Оплодотворение яйцеклеток осуществляли сухим способом. Были проведены серии опытов при различных температурах (+13⁰, +15⁰, +17⁰, +20⁰С) и вариантах оптических контактов зародышей. Темпы развития зависят от качества икры: чем лучше качество, тем быстрее и более синхронно развитие всех зародышей данной группы, а при низком качестве ярче выражены рассинхронизация и замедление развития. Как и ожидалось, скорость эмбриогенеза зависела от температурных условий: чем выше температура, тем быстрее протекает развитие и ярче выражена рассинхронизация развития внутри исследуемой группы; при низкой температуре наблюдается замедление развития и синхронизация внутри исследуемой группы. Эффекты температурного воздействия на протяжении последующего онтогенеза не сохраняются. Оптический контакт изолированных групп зародышей низших позвоночных приводит к изменению темпа развития, процента эмбриональной смертности и появлению аномально развивающихся особей. Наблюдаемые эффекты стадийспецифичны. Последствия оптического взаимодействия могут сохраняться на протяжении онтогенеза, проявляясь в изменении темпов вылупления, роста предличинки, становления основных систем органов. Использование УСВ позволяет обеспечить выживание значительного количества особей, находящихся в условиях, практически не совместимых с жизнью. Использование УСВ на ранних стадиях развития живых организмов позволит в перспективе проводить коррекцию нарушения нормального развития в эмбриональном периоде.

Экспрессия транспортёров серотонина в эмбриогенезе *Xenopus laevis*

Никишин Денис Александрович¹, Кремнёв С. В.²

(¹Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН, Россия, Москва, ²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, denisnikishin@gmail.com)

На ранних стадиях эмбрионального развития шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* показано присутствие и функциональная активность классического трансммиттера серотонина (5-НТ). В частности, показана возможная роль 5-НТ и систем его транспорта в установлении лево-правой асимметрии. Целью данной работы было исследование экспрессии транспортера серотонина (SERT) и везикулярных транспортеров моноаминов (VMAT) в эмбриогенезе *X. laevis*.

Для ОТ-ПЦР использовали тотальную РНК, выделенную из яйцеклеток и эмбрионов на стадиях 2-х бластомеров, средней и поздней бластулы, ранней гаструлы, нейрулы и вылупления, а так же из головастиков и мозга взрослых лягушек *X. laevis*. Специфические олигонуклеотиды подбирали к последовательностям мРНК VMAT1 и VMAT2 *X. laevis*, а так же к консервативным участкам, выявленным при сравнении мРНК SERT *Xenopus tropicalis* и *Danio rerio*. Динамику экспрессии VMAT2 количественно исследовали методом ПЦР в реальном времени, в качестве эндогенного контроля использовали ген орнитиндекарбоксилазы, степень экспрессии рассчитывали относительно стадии 2 бластомеров.

Экспрессия SERT выявлена на всех исследованных стадиях развития. Продукт ПЦР отсекуенирован, полученная нуклеотидная последовательность на 93% совпадает с мРНК SERT *X. tropicalis*. Экспрессия VMAT1 выявляется только на стадиях нейрулы, вылупления и головастика, а VMAT2 – в пробах ооцитов и ранних эмбрионов до стадии гаструлы. Методом ПЦР в реальном времени установили, что экспрессия VMAT2 максимальна на стадии средней бластулы (125% относительно стадии 2 бластомеров), после чего уменьшается, составляя 60% на стадии ранней гаструлы, и менее 5% – на стадии нейрулы и вылупления.

Таким образом, на ранних стадиях развития *X. laevis* экспрессируются как SERT, осуществляющий обратный захват 5-НТ, так и VMAT, осуществляющий везикулярный транспорт моноаминов. Более выраженная экспрессия VMAT2 на донервных стадиях, резко

снижающаяся после гаструляции, предполагает, что его функциональное значение более существенно именно в процессах раннего эмбриогенеза. Вместе с присутствием самого серотонина и уже продемонстрированной нами экспрессией рецепторов 5-HT_{2C} и 5-HT₇ на ранних стадиях развития *X. laevis*, полученные результаты свидетельствуют о том, что ранние эмбрионы *Xenopus* обладают основными компонентами, составляющими функциональную серотонергическую сигнальную систему.

Авторы благодарят д.б.н. Ю.Б. Шмуклера за помощь в подготовке тезисов. Работа поддержана грантом РФФИ № 08-04-00144.

Нарушение брачного поведения у самцов *D. melanogaster*, гетерозиготных по аллелю *sbr*¹², связано с дефектами развития эллипсоидного тела нервного ганглия

Никулина Анна Олеговна

(Санкт-Петербургский Государственный Университет, Россия, Санкт-Петербург, anna.o.nikulina@gmail.com)

Белок DmNXF1 (SBR) относится к эволюционно-консервативному семейству ядерных факторов экспорта NXF (Nuclear eXport Factors). Данный белок и его ортологи (MEX67p у *S.cerevisiae*, TAP (HsNXF1) у человека) обеспечивают экспорт всех мРНК из ядра в цитоплазму. Полученные нами ранее данные о характере экспрессии гена *Dm nxf1 (sbr)* в различных органах и тканях, а также аллель-специфичные проявления мутаций, среди которых известны затрагивающие поведение, позволяют предполагать, что данный ген является полифункциональным и играет особую роль в развитии и функционировании нервной системы дрозофилы.

В нашем распоряжении имеется коллекция линий *D. melanogaster*, несущих различные мутации в гене *sbr*. Наибольший интерес представляет рецессивная летальная мутация *sbr*¹² с аллелеспецифичным доминантным эффектом. Самцы с генотипом *sbr*^{12/+}, несущие аллель *sbr*¹² в X-хромосоме и аллель *sbr*⁺, транслоцированный в Y-хромосому, являются стерильными и имеют нарушения ряда параметров брачного поведения. Используя метод флуоресцентной конфокальной микроскопии, мы провели сравнение структуры нервных ганглиев самцов дикого типа (линия *OregonR*) и мутантных с генотипом *sbr*^{12/+}.

Эксперименты показали, что у мутантных самцов структура нервного ганглия отличается от таковой у самцов дикого типа. Среди прочих дефектов, наиболее значимым являются изменения размера и структуры эллипсоидного тела – одного из нервных центров, контролирующих поведение насекомого. Количество нейронов, образующих эллипсоидное тело, у мутантов существенно ниже, чем в норме.

Известно, что нарушения структуры эллипсоидного тела у самцов дрозофилы приводит к нарушениям брачного поведения, что характерно и для самцов *sbr*^{12/+}. Таким образом, нарушение брачного поведения у мутантов вызвано не только нарушением спермогенеза, что может быть причиной отсутствия мотивации к спариванию, но и дефектами развития эллипсоидного тела. Полученные результаты позволяют утверждать, что ген *Dm nxf1* является полифункциональным и относится к группе генов, важных и для нормального протекания спермогенеза, и для нейрогенеза.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 09-04-00697.

Использование метода гаметического хроматина в экспериментальной нанотоксикологии

Павлюченкова Светлана Михайловна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, SmileSweta@yandex.ru)

В связи с ускоренным развитием нанотехнологий проблема генетической и биологической безопасности приобретает большую актуальность, потому что природная среда пополнится новым классом раздражителей, обладающих цито- и генотоксической активностью. Встреча биологических систем с наноматериалами не исключает возможность катастрофических изменений первых. Уже появляются сведения о том, что многие наночастицы потенциально опасны для живых организмов.

Задача настоящей работы состояла в изучении эффектов действия наночастиц золота на спермии мышей. Для достижения поставленной цели была использована модельная система деконденсации ядерного хроматина *in vitro*, имитирующая процесс образования мужского пронуклеуса и выявляющая потенциальные повреждения в структуре ДНП-комплекса. Суспензию спермиев готовили из каудальных отделов эпидидимиса половозрелых самцов мышей-гибридов СВА×С57/В16.

Нами впервые показано, что обработка гамет, демембранизированных додецилсульфатом Na, в средах, содержащих наночастицы золота (диаметр частиц ~2.5 нм) в концентрации 1.0×10^{15} частиц/мл, и последующая инкубация в растворе дитиотреитола приводят к нарушению динамики процесса декомпактизации хроматина. По степени распаковки ядерного хроматина гаметы условно были разделены на три группы: «интактные» (в целом не отличающиеся от нативных ядер), частично и полностью деконденсированные. Внешне структура частично и полностью деконденсированных ядер спермиев, обработанных наночастицами золота, резко отличалась от контрольных образцов, приобретая глыбчатую организацию хроматина вместо дисперсной. Площадь проекции полностью деконденсированных ядер была уменьшена приблизительно в 2 – 3 раза. При равных условиях эксперимента частота встречаемости интактных, частично деконденсированных и полностью деконденсированных ядер составляла в контроле 2, 18 и 80%, а в образцах, инкубированных с наночастицами золота в течение 20 мин и 40 мин, соответственно 16, 80 и 4% и 60, 30 и 10%.

На основании этих наблюдений мы пришли к заключению, что наночастицы золота обладают сперматоотоксическим действием, механизм которого, вероятно, связан с их взаимодействием с молекулами двухцепочечной ДНК.

Использованный в работе метод может оказаться весьма удобным и полезным при изучении цитотоксической активности наночастиц других металлов, а также наночастиц иного происхождения.

Изучение механизмов, регулирующих морфогенез в процессе регенерации хвоста тритона *Pleurodeles waltl* в условиях различной гравитационной нагрузки

Радугина Елена Александровна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, defshensy@gmail.com)

Тритоны *Pl.waltl* обладают уникальными регенерационными способностями, например, полностью восстанавливают хвост после ампутации. Известно, что ход эпиморфной регенерации зависит от действия гравитации. Недавно выяснилось, что у тритонов в условиях перегрузки по сравнению с состоянием в аквариуме происходит изменение формы регенерата – загиб в дорсовентральной плоскости. Этот эффект можно рассматривать как пример эпигенетической регуляции морфогенеза, механизмы которой остаются малоизученными.

В экспериментах использовали 2 группы тритонов - группу на субстрате (1^g), опыт) и в аквариуме (low “g”, контроль). Достоверность морфогенетического эффекта определяли морфометрическими методами с помощью программ компьютера, с последующей статистической обработкой данных. Регенераты на нескольких стадиях развития обрабатывали гистологическими и иммунохимическими методами.

Морфометрию регенератов в контроле и опыте (60 тритонов) проводили на нескольких сроках регенерации, вплоть до окончательного завершения морфогенеза. Значение угла загиба регенератов в опыте оказалось достоверно ниже, чем в контроле, с 21-го дня (начала морфогенеза); длина регенератов в двух группах не отличалась. На 42-й день регенерации значение угла загиба в контроле превышало значение в опыте вдвое (22, 44° и 44,84°). Отличие оставалось значительным и по завершении морфогенеза, на стадии роста хвоста. Различия в гистоструктуре регенератов в двух группах обнаруживались со стадии начала морфогенеза: в опыте наблюдались загиб эпандимной трубки и хрящевого тяжа книзу, конденсация бластемных клеток возле конца эпандимной трубки и увеличение сети меланоцитов на дорсальной стороне. На ранней стадии регенерации в опыте отмечалось

утолщение дорсального эпидермиса: 7-8 слоев клеток по сравнению с 4-5 слоями в вентральном эпидермисе. Было определено соотношение количества пролиферирующих клеток, меченых бромдеоксиуридином, на вентральной и дорсальной стороне регенерата. В контроле на 7-й день оно равнялось 1,6 в эпидермисе и 2,0 в соединительной ткани, в опыте было ниже (0,6-1,4 и 1,1, соответственно).

Наблюдаемый морфогенетический эффект, по-видимому, во многом объясняется дифференциальной регуляцией пролиферации в разных зонах регенерата. Для понимания её механизма мы работаем над изучением влияния регуляторов пролиферативной активности клеток, в т.ч. факторов роста и белков теплового шока.

Использование атомно-силовой микроскопии для исследования распределения трансплантированных клеток стромы костного мозга при трансплантации *in vitro*
Сергеев Сергей Александрович, Храмова Ю.В., Ефремов Ю.М.

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия, embryossa@gmail.com)

Применение методов атомно-силовой микроскопии и органотипического культивирования позволяет детально описать морфологические преобразования, происходящие с клетками, введенными в ткань реципиента, проследить их пути миграции и оценить перспективность применения в регенеративной медицине.

Культивирование сетчатки проводили в виде эксплантатов в среде DMEM/F12 с 20нг/мл FGF и EGF, 7% FCS, гепарином, добавками B12 и N2. Для трансплантации использовали EGFP+ клетки стромы костного мозга (ММСК) 4-го пассажа в концентрации 1000-3000 клеток в 0,1мл среды. АСМ-изображения были получены на атомно-силовом микроскопе Solver BIO Olympus (НТ-МДТ, Россия, Зеленоград), с полем сканирования 100x100x7 мкм³. Анализ изображений был проведен в программах Nova (НТ-МДТ) и STATISTICA 8.0.

Показано морфологическое преобразование трансплантированных ММСК в клетки с нейрональным фенотипом, их активная миграция до 3-х суток после инъекции и образование биполярных и мультиполярных нейритоподобных выростов. Выселению клеток из эксплантата сетчатки предшествовало образование ламеллоподиальных выростов (средняя длина 10,09мкм, средний диаметр 3,68мкм). К 7 суткам культивирования наблюдалось увеличение их протяженности (средняя длина 21,65мкм, средний диаметр 0,78мкм). По поверхности глиальных и эндотелиальных клеток происходило распространение нейритов, которые достигали нескольких миллиметров в длину и до 0,47мкм в диаметре. Показано достоверное отличие ($p < 0,01$) в величине отростков, формируемых глиальными и эндотелиальными компонентами сетчатки и высотами отростков нейронов и трансплантированных ММСК. Показано отсутствие достоверных отличий ($p = 0,52$) в средней квадратичной шероховатости поверхности трансплантированных ММСК, изменивших свою морфологию на нейроноподобную и нейронов сетчатки, а так же отсутствие достоверных отличий ($p = 0,26$) при сравнении асимметрии распределения отростков трансплантированных клеток и нейронов эксплантата сетчатки. Не удалось выявить достоверных различий и в размахе высот отростков между ММСК и нейронами сетчатки при наличии достоверных различий ($p < 0,01$) высот отростков этих клеток с высотами отростков глиальных и эндотелиальных клеток сетчатки. Таким образом, полученные данные позволяют говорить о морфологическом преобразовании ММСК в нейроноподобные клетки, способные к установлению взаимосвязей с клетками сетчатки, однако вопрос функционального замещения нейронов трансплантированными стволовыми клетками остается открытым.

Работа выполнена при реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 годы.

Влияние тяжелой воды на двигательную активность сперматозоидов человека

Страшнова Аглия Львовна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, aglayakonkova@mail.ru)

Известно, что высокие концентрации тяжелой воды (D_2O) токсичны для сперматозоидов млекопитающих. В то же время, влияние малых концентраций тяжелой воды и легкой (1H_2O) воды на двигательную активность и выживаемость сперматозоидов остается неизвестным. Последнее стало целью нашего исследования.

Объектом исследований были очищенные от семенной плазмы и круглых клеток центрифугированием в градиенте плотности перколла сперматозоиды человека. Двигательную активность сперматозоидов регистрировали с помощью анализатора изображений АТ-05. В качестве инкубационной среды использовали солевую среду Тироде, приготовленную на дистиллированной воде, служившую контролем. В опытах использовали среды, приготовленные на легкой воде и на смеси легкой и тяжелой воды с 0,5%, 1%, 5%, 10% и 20% содержанием D_2O . Влияние растворов с разным содержанием тяжелой воды оценивали статистическими методами.

В среде, содержащей 20% D_2O , сперматозоиды быстро теряют двигательную активность и гибнут. В среде с 10% D_2O подвижность сперматозоидов снижается вдвое в 3 раза быстрее в сравнении с контролем. В среде с 5% D_2O отчетлива тенденция снижения подвижности. Достоверных отличий двигательной активности и жизнеспособности сперматозоидов в средах с 0,5%, 1% и 5% содержанием тяжелой воды в сравнении с контролем не выявлено.

Таким образом, низкие концентрации тяжелой воды, в отличие от высоких (10%, 20%), не оказывают выраженного токсического воздействия на сперматозоиды человека. В отсутствие тяжелой воды (т.е. в протиевой воде) происходит значимая активация движения сперматозоидов в сравнении с контролем.

Водородным связям принадлежит первостепенная роль при формировании структуры белковых молекул. Связи, образованные дейтерием, более прочные, чем сформированные протием, что обусловлено вдвое большей массой атома дейтерия в сравнении с массой атома протия. Участие дейтерия в гидратных оболочках белковых комплексов приводит к изменению их конформации и, как следствие, к изменению их функциональных свойств.

Синтез молекул АТФ, обеспечивающих подвижность сперматозоидов, осуществляется АТФ-синтазой, посредством переноса протонов через мембрану митохондрий. Дейтерий тяжелой воды образует прочные связи с аминокислотами, что блокирует деятельность фермента. Таким образом, кажется наиболее вероятным, что механизм подавления двигательной активности сперматозоидов в средах, содержащих тяжелую воду (в том числе и в природной воде, т.е. в контроле), обеспечен прекращением синтеза АТФ.

Сравнение *in vitro* культур клеток энтодермального происхождения

Черниогло Елена Степановна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, факультет Биоинженерии и Биоинформатики, Россия, Москва, 4ernioglo_Lena@mail.ru)

На сегодняшний момент актуальной проблемой клеточной биологии является изучение пластичности клеточного фенотипа и возможностей трансдифференцировки клеток в пределах одного зародышевого листка. Целью данной работы является характеристика постнатальных культур клеток слюнной железы мыши в сравнении с постнатальными прогениторными клетками печени в условиях *in vitro*.

Работа проводилась на самцах мышей линии C57 black 2-5 месячного возраста. Эпителиальные протоковые клетки подчелюстной слюнной железы и печеночные клетки-предшественники были выделены и затем культивировались. Оценка культур проводилась в 2d (на пластике) и 3d (в коллагеновом геле) условиях на ранних и поздних пассажах.

В результате были получены и охарактеризованы культуры постнатальных клеток слюнной железы и постнатальных прогениторных клеток печени. Выделенные клетки проявляли иммунофенотипические свойства эпителиальных клеток энтодермального происхождения, обладали высокой пролиферативной активностью, способностью к

спонтанной дифференцировке в крупные многоядерные клетки. Сравнение клеток по экспрессии иммунофенотипических маркеров показало изменение их экспрессии на более поздних пассажах. Так, к 5 пассажу в части клеток слюнной железы теряется экспрессия цитокератинов 7, 18 и 14. Одновременно возникает экспрессия виментина и нестина. Различается и поведение клеток в 3d условиях: клетки слюнной железы быстро контрактируют гель, в то время как печеночные клетки вызывают контракцию в гораздо меньшей степени. В 3d условиях также усиливается способность к дифференцировке.

По результатам проделанной работы можно заключить следующее: Полученные клетки представляют собой постнатальные клетки энтодермального происхождения. Печеночные клетки являются прогениторными паренхимными клетками, в то время как клетки слюнной железы являются протоковыми клетками. По иммунофенотипическим характеристикам протоковые клетки слюнной железы и прогениторные клетки печени проявляют значительное сходство и, по всей видимости, являются близкими по своему гистогенетическому происхождению. При культивировании наблюдается следующая дифференцировка клеток: клетки слюнной железы преимущественно формируют протоковые структуры; прогениторные клетки печени дифференцируются в крупные, содержащие большое количество гранул клетки.

Разработка специализированных оценочных функций для предсказания констант ингибирования Ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) глипролинами
Балицкая Елизавета Дмитриевна¹, Даниюкова Т.Н.², Шрам С.И.², Ефремов Р.Г.³

(¹Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, ²Институт молекулярной генетики РАН, ³Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия, Москва elizaveta.balitskaya@gmail.com)

Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ, пептидил-дипептидаза А, КФ 3.4.15.1), хорошо известен как фермент, регулирующий кровяное давление и водно-солевой обмен. Ведущая роль АПФ в регуляции артериального давления подтверждается широким применением ингибиторов этого фермента (каптоприл, эналаприл и т.д.) в клиниках при лечении различных форм гипертонии.

В литературе на данный момент описаны короткие пептиды, сходные по структуре с глипролинами, способные ингибировать АПФ. Эти пептиды выделены главным образом из гидролизатов коллагена или желатина, либо синтезированы. Они обладают определенным сходством, а именно - наличием одной и той же последовательности – Gly-Pro. Так как субстратами АПФ в организме являются достаточно короткие пептиды, предстояло выяснить, могут ли глипролины расщепляться этим ферментом. На данный момент, исходя из экспериментальных данных, показано, что АПФ расщепляет глипролины, имеющие С-концевую GR-последовательность. Однако для дальнейшего изучения особенностей связывания глипролинов с АПФ необходимо знать, какие из них сильнее его ингибируют.

В данной работе проводили исследование констант ингибирования глипролинов с АПФ с помощью метода молекулярного докинга. Выбор программы докинга и оценочной функции для оптимального встраивания ингибитора в сайт связывания фермента производили на наборе из 20 комплексов АПФ с лигандами, взятых из базы данных PDB. Анализ полученных решений докинга показал, что для предсказания структуры комплекса лиганда с белком использование оценочной функции ASPSCORE программы GOLD является наилучшим (показывает верную ориентацию лиганда в сайте связывания белка в 17 из 20 комплексов), что существенно превосходит результаты, полученные с помощью других оценочных функций.

Исследование кинетики внутриклеточного транспорта лигандированных и нелигандированных полиплексов

*Белецкая Елена Александровна¹, Уласов А.В.², Трусов Г.А.^{1,2}, Родиченко Н.С.³,
Дурьманов М.О.^{1,2}, Храпцов Ю.В.²*

(¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, ²Институт биологии гена РАН, ³Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, факультет Вычислительной математики и Кибернетики, Россия, Москва, elenebelle@gmail.com)

Разработка невирусных векторов доставки является важным направлением в области генотерапии рака. Одним из таких невирусных векторов являются полиплексы – комплексы ДНК с поликатионами. Одним из возможных способов осуществления адресной доставки является введение в состав полиплекса компонента, определяющего клеточную специфичность. В качестве подобного компонента в нашей лаборатории было предложено использовать лиганд МК1С, содержащий олигопептид, специфичный к меланокортиновым рецепторам первого типа, сверхэкспрессированным на клетках меланомы. Для создания полиплексов в работе использовались синтезированные нами блок-сополимеры полиэтиленмин-полиэтиленгликоль, модифицированные лигандом МК1С: ПЭИ-ПЭГ-МК1С, а так же полимерные носители не содержащие лиганда: ПЭИ-ПЭГ. Была показана высокая эффективность трансфекции лигандированными полиплексами клеточных линий мышиных меланом Клаудмана S91, клон M3 и B16F1. С помощью конфокальной лазерной

сканирующей микроскопии и технологии FRET (Фёрстовский резонансный перенос энергии) визуализировали процессы внутриклеточного транспорта полиплексов, а также выявляли, в какой части клетки ДНК полиплексов находится в запактованном блок-сополимерной компонентой или распакованном состоянии. Показано, что лигандированные полиплексы накапливаются в клетках-мишенях с большей скоростью, чем нелигандированные. Полиплексы, несущие МК1С, обнаруживаются в ядрах на более ранних временах. Это объясняет более высокую трансфицирующую активность лигандированных полиплексов в сравнении с нелигандированными. Отмечены также значительные различия в кинетике поступления полиплексов в лизосомы: скорость поступления полиплексов, на основе ПЭИ-ПЭГ-МК1С существенно больше, чем на основе ПЭИ-ПЭГ, и большая часть из них в запактованном состоянии. Это позволяет делать вывод о том, что полиплексы ПЭИ-ПЭГ-МК1С попадают в клетку рецептор-опосредованным путем, т.е. с использованием лиганда на их поверхности. Это предположение подтверждается в экспериментах с конкуренцией со свободным лигандом, в которых наблюдалось значительное снижение накопления лигандированных полиплексов в эндолизосомах.

Сравнительный анализ структур и динамики катион проводящих лиганд-зависимых ионных каналов прокариот и эукариот

Большакова Мария Александровна, Попинако А.В., Шайтан К.В.

(Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова, b.m.a.16@mail)

Представители семейства лиганд-зависимых ионных каналов (ИК) определяют широкий спектр физиологических функций и традиционно вызывают интерес как потенциальные мишени для лекарств. Эти каналы присутствуют в различных типах клеток, включая и клетки прокариот. Поэтому сравнительное изучение пространственной структуры, динамики ИК прокариот и эукариот представляет и общебиологический интерес, так как способствует пониманию общих механизмов работы каналов на молекулярном уровне. В данной работе пространственная модель серотонинового 5-HT₃ рецептора человека была получена методом моделирования по гомологии (программа MODELLER). Исследование динамики структур ИК прокариот (PDB ID= 3EAM) и эукариот (модель серотонинового 5-HT₃ рецептора, структура никотинового ацетилхолинового рецептора человека (PDB ID= 2BG9)) проводилось в программе GROMACS методом неравновесной молекулярной динамики, эффективный радиус поры был рассчитан с помощью программного пакета HOLE. Расчет эффективного радиуса поры выявил селективные ворота каналов. Для прокариотического ИК минимальный радиус поры, сформированной остатками треонина, составил 1,9 Å. Для ИК эукариот самая узкая область канала имеет радиус 2,3 Å (5-HT₃) и 2,8Å (для nAChR), и образована остатками треонина. Полученные данные были сопоставлены с результатами молекулярно-динамических расчетов. Динамика движения катионов происходит неравномерно, имеются зоны торможения. Положительно заряженные ионы Na⁺ и Cs⁺ задерживаются в области отрицательно заряженных аминокислотных остатков GLU, ASP и в зонах с минимальным радиусом. Оказалось, что локализация отрицательно заряженных аминокислотных остатков для ИК прокариот и эукариот соответствует области, приближенной к устью канала. Эти заряженные остатки, по-видимому, оказывают влияние на ионную селективность канала и на разрыхление гидратной оболочки катионов. Таким образом, сравнительное исследование ионной миграции для катион проводящих ИК прокариот и эукариот выявило некоторые закономерности. Селективность ИК определяется областью отрицательно заряженных колец, сформированных остатками GLU, ASP и стерическим фактором, образованным треониновым кольцом. Комбинация этих факторов и определяет селективность ИК.

Принципиально новый фермент для синтеза фармакологически важных α -1,4-галактоконъюгатов: мутантная форма α -галактозидазы из *Thermotoga maritima*, полученная методами белковой инженерии

Борисова Анна Сергеевна, Бобров К.С., Рычков Г.Н., Шабалин К.А., Кульминская А.А.
(Петербургский Институт Ядерной Физики им. Б.П. Константинова РАН, Отделение Молекулярной и Радиационной Биофизики, Россия, Санкт-Петербург, annsbor@gmail.com)

Альтернативой дорогостоящему химическому синтезу олигосахаридов является ферментативный синтез с применением гликозилтрансфераз и гликозидгидролаз. На основании полученных ранее данных о структуре и механизме действия фермента, α -D-галактозидаза (К.Ф. 3.2.1.22) из термофильной бактерии *Thermotoga maritima* (ТмГалА) была выбрана в качестве перспективного инструмента для синтеза биологически значимого и фармакологически активного галактоконъюгата глоботриозы α -Gal1-4- α -Gal1-4Glc. Данное соединение необходимо для лечения и диагностики таких распространенных заболеваний, как пиелонефрит и фатальных зоонозных болезней пищевого происхождения, вызываемых Шига токсин продуцирующей кишечной палочкой (ЕНЕС и STEC).

В ходе работы было показано, что ТмГалА дикого типа обладает трансгликозилирующей активностью, синтезируя три типа связи α -1,4-, α -1,3- и α -1,6-, причем основными продуктами являются галактоконъюгаты с α -1,3-гликозидной связью между галактозными остатками. Была разработана новая методика определения кинетических параметров реакции гидролиза олигосахаридов с различной степенью полимеризации и с различными типами связи.

На основании расчетов рационального компьютерного дизайна, были предложены мутации аминокислотных остатков в активном центре фермента для изменения его региоселективности в реакциях трансгликозилирования и гидролиза в отношении преимущественно α -1,4-галактозидной связи. Методом сайт-направленного мутагенеза был получен целый ряд мутантных форм α -галактозидазы, ферменты были выделены, охарактеризованы и подвергнуты сравнительному анализу. Были подробно изучены свойства мутантов α -галактозидазы в реакциях гидролиза и трансгликозилирования. Три точечных мутанта (F328A, P402N и G385A) были отобраны в качестве наиболее перспективных для синтеза преимущественно α -1,4-галактоолигосахаридов. С помощью метода ЯМР-спектроскопии было показано, что концентрация дигалактозида α Gal-(1,4)- α Gal-pNp, получаемого в реакции, катализируемой ферментом F328A, в 16 раз больше концентрации 1,4-дигалактозида, получаемого в реакции, катализируемой ТмГалА д.т. Общий выход продуктов трансгликозилирования также увеличился в 2.6 раза.

Для синтеза глоботриозы был создан двойной мутант F328A/P402N. Было показано, что мутантные формы α -галактозидазы F328A и F328A/P402N демонстрируют наилучшие способности в синтезе этого соединения. По предварительным данным, мутант F328A является наиболее перспективным и уникальным ферментом из класса гликозидгидролаз, способным синтезировать галактоолигосахариды с 1,4-связью.

Гранты: Государственный контракт № 02.527.11.0001 от 24 июня 2008 г. «Рациональный дизайн промышленных ферментов, основанный на методах молекулярного моделирования».

Роль циклозиса в формировании неоднородных свойств плазмалеммы и слоя хлоропластов в клетках водоросли *Chara corallina*.

Додонова Светлана Олеговна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, dodonova.svetla@gmail.com)

Движение цитоплазмы (циклозис) играет важную роль в жизнедеятельности клетки, так как обеспечивает латеральное распространение веществ на большие расстояния. Эта функция особенно важна для гигантских клеток, таких как междоузлия харовых водорослей. Роль циклозиса во внутриклеточной коммуникации плазмалеммы и хлоропластов остается малоизученной. Поэтому целью данной работы является изучение роли циклозиса в возникновении функциональной гетерогенности слоя хлоропластов и плазмалеммы в

клетках водоросли *Chara corallina*. Известно, что клетки *Chara* на свету формируют домены (кислые и щелочные зоны (ЩЗ)), различающиеся по уровню pH в примембранных слоях среды и по уровню нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ).

Для выявления роли циклозиса в возникновении функционально различных доменов подходящими представляются условия, близкие к естественному мозаичному освещению, когда в клетке чередуются участки с темновым и фотосинтетическим метаболизмом, поэтому в экспериментах использовали как общее, так и локальное освещение клеток *Chara*. Рабочей гипотезой служило предположение, что обмен метаболитов между хлоропластами и цитоплазмой в зоне освещения изменяет состав движущегося цитозоля, который оказывает влияние на плазмалемму и слой хлоропластов в удаленных затененных участках. В связи с этим измеряли H⁺-транспортирующую активность плазмалеммы и NPQ в хлоропластах затененных участков клеток *Chara* на расстояниях 1–5 мм по разные стороны от зоны локального освещения. Показано, что измеряемые показатели при равном удалении по длине клетки от области освещения существенно различаются в зависимости от направления циклозиса. Когда в зону измерения попадала цитоплазма из освещенного участка, наблюдали формирование ЩЗ и возникновение NPQ в хлоропластах. Если в зону измерения попадала цитоплазма из затененного участка, формирования ЩЗ и NPQ не происходило. Результаты указывают на роль циклозиса в распространении физиологически активного интермедиата, влияющего на мембранный транспорт, функциональную активность хлоропластов и образование пространственных структур в растительной клетке.

Изучение молекулярных механизмов ионной проводимости бактериального калиевого канала *KcsA* методами молекулярного моделирования

Касимова Марина Анатольевна, Шайтан А.К.

(Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, marina.kasimova@gmail.com)

Ионные каналы — порообразующие белки, поддерживающие разность потенциалов, которая существует между внешней и внутренней сторонами клеточной мембраны всех живых клеток. Трансмембранный транспорт ионов через каналы лежит в основе генерации электрической активности в нервных и мышечных клетках, контроля возбудимости сердечной мышцы, внутриклеточной передачи сигнала, секреции многих гормонов, клеточной пролиферации и регуляции клеточного объема. Дисфункция каналов приводит к ряду патологий, начиная с нарушения координации движений и сердечной недостаточности и заканчивая сахарным диабетом. Актуальность изучения их структуры и функционирования обусловлена необходимостью понимания причин возникновения данных патологий и дальнейшей разработки нового типа лекарств, нацеленных на канал, как на мишень. Изучению работы ионных каналов уделяется большое внимание в современной молекулярной биофизике. Среди всего арсенала методов особое место занимает молекулярное моделирование. В отличие от молекулярно-биологических и электрофизиологических методов молекулярное моделирование позволяет получить данные о динамике процессов атомистического уровня.

В качестве объекта изучения был выбран бактериальный калиевый канал **KcsA**, который является упрощенной моделью потенциал-зависимых калиевых каналов возбудимых клеток эукариот. Для открытой структуры калиевого канала с помощью метода классической молекулярной динамики моделировали процесс прохождения ионов через пору при различных внешних условиях: различном значении напряженности электрического поля и различном значении концентрации калиевой соли в воде. На основе траекторий молекулярной динамики были построены вольтамперные характеристики **KcsA**. Были выявлены два механизма проведения ионов калия через ионный канал. С помощью метода *Adaptive biasing force* рассчитывали профиль свободной энергии для совокупности ионов, находящихся в селективном фильтре, при различных условиях напряженности внешнего поля. На основе полученного графика были сделаны выводы о причине переключения между двумя механизмами проводимости калиевого канала.

Влияние интенсивности света на адаптационные перестройки фотосинтетического аппарата (ФСА) одноклеточной водоросли *Chlamidomonas reinhardtii* в условиях дефицита азота и азотного голодания

Кузнецова Александра Викторовна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, alya_kuznetsova@mail.ru)

Целью данной работы было выявить основные закономерности и особенности реагирования ФСА одноклеточной водоросли *Chl.reinhardtii* на условия дефицита азота и азотного голодания в зависимости от освещенности.

Для создания «дефицита азота» водоросли выращивали в условиях двукратного (далее— «среда N/2») и десятикратного (далее—«среда N/10») разбавления среды по азоту. Для создания условий азотного голодания водоросли предварительно адаптировали на тех же средах, затем отмывали и пересаживали на среду, не содержащую азота. Культивирование осуществляли при двух световых режимах - 50 и 100 мкмоль/м²с.

Самая первая реакция клеток на дефицит азота оказалась в снижении хлорофилла «а» и «b» и росте вклада каротиноидов. «Дефицит азота» проявился вскоре после полного исчерпания этого ресурса из среды культивирования у тех водорослей, которые выращивали в «среде N/10» при интенсивности света 100 мкмоль/м²с. В этих условиях значение переменной флуоресценции Fv/Fm падало не ниже 0,45 отн.ед. Признаки дефицита азота были слабо выражены даже спустя длительное время после исчерпания этого ресурса в «среде N/10» у водорослей, выращенных на свету 50 мкмоль/м²с.

«Азотное голодание» у водорослей *Chl.reinhardtii* проявилось при истощении внутриклеточных запасов азота и сопровождалось деградацией пигментного аппарата (полное разрушение хлорофилла «а» и «b»), а также накоплением большого количества каротиноидов. При культивировании водорослей на свету низкой интенсивности минимальное значение Fv/Fm, равное 0,34 отн.ед., наблюдали у объектов, предварительно адаптированных к «среде N/2». В этих условиях при высокой интенсивности облучения Fv/Fm снизилось до 0,1 отн.ед. Минимальное значение Fv/Fm на интенсивном свету наблюдали у водорослей, предварительно адаптированных к «среде N/10», которое составило 0,05 отн.ед.

Показано, что ФСА *Chlamidomonas reinhardtii* отвечает снижением эффективности первичных процессов фотосинтеза в процессе адаптации к изменившимся условиям «азотного» питания. В условиях дефицита азота эффективность фотосинтеза снижается незначительно, даже при увеличении интенсивности света. Насколько сильно и как быстро снизится эффективность фотосинтеза в условиях азотного голодания, зависит не только от интенсивности света, но и от предварительной адаптации клеток водорослей к определенным условиям питания по азоту.

Поиск молекулярных мишеней коротких пептидов семейства глипролинов с помощью метода трехмерных фармакофоров.

Поиск молекулярных мишеней коротких пептидов семейства глипролинов с помощью метода трехмерных фармакофоров

Логинов Павел Андреевич

(Московский физико-технический институт, Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Россия, Москва, loginovpa@gmail.com)

Известно, что короткие пептиды обладают широким спектром биологической активности. Однако молекулярные механизмы этого действия не всегда изучены. В настоящей работе исследуются короткие (2-4 а/к) пептиды семейства глицилпролинов, проявляющие некоторые полезные свойства, среди которых антитромботическое, нейтропротективное действие и другие. На первом этапе выяснения молекулярных аспектов этих механизмов необходимо идентифицировать молекулы — потенциальные мишени глицилпролинов в клетке. В настоящей работе тестируемый набор мишеней ограничили белками с расшифрованной трехмерной структурой. Исследование проводили с помощью

виртуального скрининга баз данных лигандов белков, находящихся в Банке данных белковых структур (PDB), с использованием метода трехмерных фармакофоров, созданных на основе специфических структурно-динамических свойств пептидов данного семейства. Указанные свойства рассчитывали с помощью метода молекулярной динамики ряда пептидов в водных растворах. Итоговый фармакофор представляет из себя 4 функциональных эпитопа (донор и акцептор водородной связи, гидрофобный фрагмент и отрицательный заряд), определенным образом расположенные в пространстве.

По итогам скрининга были выделены основные группы белков — потенциальных мишеней глицилпролинов: это пенициллин-связывающие белки, лейцил- и аланил-пептидазы, наличие которых в итоговой подборке подтверждает применимость использованных методов, и другие белки, среди которых особенно интересными представляются TNF-альфа-превращающий белок, ангиотензин-превращающий белок и тромбин. В настоящее время проводится дальнейшая экспериментальная и теоретическая проверка гипотезы о связывании глицилпролинов с этими белками.

Исследование сохранности свойств модульного нанотранспортера для адресной внутриклеточной доставки лекарств

Лупанова Татьяна Николаевна, Слатникова Т.А.

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Лаборатория молекулярной генетики внутриклеточного транспорта ИБГ РАН, Россия, Москва, atyanalupanova@yandex.ru)

В нашей лаборатории был разработан ряд модульных нанотранспортеров (МНТ) для направленной доставки противораковых веществ в ядро клетки-мишени. Большое значение для практического применения лекарственных средств имеет хранение препаратов, а также возможность их модификации для присоединения доставляемых лекарств. Целью данной работы было исследование сохранности свойств МНТ после лиофилизации и его модификации для присоединения доставляемых лекарств. Исследованные нами МНТ включают в себя следующие модули: эпидермальный фактор роста (ЭФР) в качестве интернализуемого лиганда; оптимизированный сигнал ядерной локализации (СЯЛ) большого Т-антигена вируса SV-40, обеспечивающий транспорт в ядро; *HMP* (гемоглобиноподобный белок *E.coli*) как модуль-носитель; транслокационный домен дифтерийного токсина (ДТокс), в качестве эндосомолитического модуля. Эффективность действия МНТ была подтверждена в экспериментах *in vivo* и *in vitro*.

Методом денатурирующего электрофореза в полиакриламидном геле было показано сохранение целостности МНТ после лиофилизации. Также была проверена эффективность связывания МНТ с рецепторами эпидермального фактора роста (ЭФР) на клетках A431 (эпидермоидная карцинома человека). Результаты этого опыта позволяют утверждать, что лиофилизированный МНТ сохраняет функциональность лигандного модуля как минимум 16 месяцев при комнатной температуре. Реакции присоединения к МНТ действующих агентов могут требовать различных условий, в том числе pH среды. Исследовалось влияние изменения pH среды на растворимость МНТ. Показано, оптимальными условиями для работы с МНТ являются значения pH среды 3-3,5 и 7,4-11. Для присоединения некоторых радионуклидов, используемых для радиотерапии, необходима модификация нанотранспортера хелатообразующим агентом. Были подобраны оптимальные условия конъюгации МНТ с хелатообразующим агентом p-SCN-Bn-DOTA. Методом спектрофотометрии с использованием Арсеназо III и хлорида свинца (203) была определена степень модификации МНТ, которая оказалась близка к 1. Исследование влияния конъюгации на способность связываться с рецепторами ЭФР показало: такая модификация транспортера не влияет на его связывание с рецепторами ЭФР. Лиофилизация МНТ, конъюгированного с хелатообразующим агентом, также не влияет на его структурную целостность и способность связываться с рецепторами ЭФР. Проведенные исследования позволяют утверждать, что МНТ сохраняет свою целостность и функции при длительном хранении в лиофилизованном виде, а также не теряет своих свойств при модификациях и в условиях, необходимых для работы с некоторыми локально действующими агентами.

Модуляция ферментативной активности нейтрофильных гранулоцитов квантовыми точками

Михеева Эльза Равилевна

(Нижегородский государственный технический университет им. П.Е. Алексеева, Россия, Нижний Новгород, biomikheeva@gmail.com)

Целью работы является исследование воздействия квантовых точек различного состава на активность маркерных ферментов нейтрофилов человека (кислая и щелочная фосфатаза, миелопероксидаза). Нейтрофильные гранулоциты выделяли из крови здоровых доноров центрифугированием на двойном градиенте фиколла-урографина, ресуспендировали в растворе Хенкса в конечной концентрации $2 \cdot 10^6$ кл/мл. Клетки инкубировали (30 мин, 37°C) с квантовыми точками (КТ) CdSe/ZnS-меркаптопропионовая кислота (МПК), взятыми в конечной концентрации 0,1 мг/мл. Оценку влияния наночастиц на щелочную фосфатазу проводили по методу, предложенному Rutenburg с соавт., на кислую фосфатазу - по методу Burstone и Li с соавт., активность миелопероксидазы оценивали по интенсивности окраски субстрат-хромогенной смеси (тетраметилбензидина и пероксида водорода) спектрофотометрическим методом при 450 нм.

В контрольных наблюдениях средний цитохимический показатель (СЦК) кислой фосфатазы (КФ) составил $0,47 \pm 0,18$ усл.ед. После инкубации с CdSe/ZnS – МПК СЦК КФ снизился на 68 % по сравнению с контролем, на 60 % при инкубации с (CdSe/CdZnS)ZnS-polyT и на 17 % - CdSeCdSZnS/polyT/SiO₂-NH₂. Активность щелочной фосфатазы также уменьшилась, причем наиболее существенное снижение наблюдается для (CdSe/CdZnS)ZnS-polyT $0,2 \pm 0,03$ усл.ед. ($p < 0,05$) и CdSe/ZnS – МПК $0,26 \pm 0,14$ усл.ед. ($p < 0,05$) по сравнению с контролем ($0,54 \pm 0,23$ усл.ед.). Для наночастиц CdSeCdSZnS/polyT/SiO₂-NH₂ СЦК составил $0,47 \pm 0,17$ усл.ед. ($p > 0,05$). Спектрофотометрическим методом было выявлено уменьшение величины оптической плотности раствора, и, следовательно, активности миелопероксидазы после воздействия на нейтрофильные гранулоциты двух типов квантовых точек. В контроле величина оптической плотности составила $0,09 \pm 0,01$ усл. ед. Для CdSe/ZnS-МПК она составила $0,04 \pm 0,02$ усл. ед. ($p < 0,05$), для (CdSe/CdZnS)ZnS-polyT – $0,06 \pm 0,02$ усл. ед. ($p < 0,05$). Третий же тип КТ CdSeCdSZnS/polyT/SiO₂-NH₂ практически не оказал влияния на миелопероксидазу нейтрофилов. Возможно, это связано с функциональным покрытием квантовых точек типа CdSeCdSZnS/polyT/SiO₂-NH₂.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП ГК № 14.740.11.0456. Благодарю своего научного руководителя Светлану Николаевну Плескову.

Особенности аллостерической регуляции тромбина

Озеров Иван Витальевич^{1,2}, Ефремов Р. Г.²

¹Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Биологический факультет, ²Институт биоорганической химии РАН им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова, Москва, Россия, varnivey@mail.ru)

Растворимый белок плазмы крови тромбин относится к классу сериновых протеаз и играет ключевую роль в процессе свёртывания крови. Помимо основного активного центра тромбин имеет три дополнительных аллостерических сайта. Связывание различных соединений в этих сайтах определяет конформационные переходы между формами тромбина, выполняющими различные физиологические функции.

В настоящее время методы компьютерного молекулярного моделирования стали неотъемлемой частью фундаментальных исследований, направленных на изучение молекулярных механизмов функционирования белков. Для изучения конформационной подвижности тромбина нами был использован метод молекулярной динамики.

В процессе работы были проанализированы особенности внутримолекулярных движений тромбина, найдены корреляции между движениями различных частей молекулы. Показаны структурные различия между двумя наиболее изученными формами тромбина, которые отличаются по своей физиологической роли: первая «прокоагулянтная» форма превращает растворимый белок плазмы фибриноген в нерастворимый фибрин, из которого и

строятся тромбы, в то время как вторая «антикоагулянтная» форма тромбина расщепляет протенин С, переводя его в активную форму, что наоборот приводит к замедлению тромбообразования. Показаны изменения подвижности важных аминокислотных остатков активного сайта, определяющих специфичность тромбина к различным субстратам, при переходе между формами.

Применение прямых ингибиторов активного сайта тромбина в качестве антикоагулянтов вызывает целый ряд побочных эффектов и далеко не всегда приводит к ожидаемому терапевтическому эффекту. В отличие от ингибиторов активного сайта аллостерические регуляторы лишь модулируют активность тромбина, не внося выраженного дисбаланса в систему свёртывания крови. Но для эффективного поиска новых аллостерических регуляторов, которые являются потенциальными лекарствами, чрезвычайно важно установить связь между структурными изменениями и функцией тромбина. Пониманию и анализу этой связи посвящена данная работа.

Моделирование информационной структуры цитохрома *c* на его ADD- сайте при помощи АНИС-метода

***Острроверхова Татьяна Владимировна*^{1,2}, *Черткова Р.В.*², *Некрасов А.Н.*²**

(¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, ²Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова, Москва, Россия, tato-tato@list.ru)

В соответствии с данными АНИС-метода предложена модель функционирования цитохрома *c*, основанная на подвижности структурных блоков, соответствующих ЭЛИС высшего ранга. Для проверки модели было предложено понизить конформационную подвижность ADD-сайта, на котором расположен Met-80, являющийся лигандом Fe гема цитохрома *c*. Мутантные гены цитохрома *c* синтезировали методом сайт-направленного мутагенеза QuikChangeTM Mutagenesis Kit (Stratagene, США).

С использованием ряда аминокислотных остатков, имеющих наибольшую частоту встречаемости в ADD+ сайтах негомологичных белков и протеома *E. coli*, составлен массив фрагментов 76-83 а.о. цитохрома *c*. При помощи АНИС-метода рассчитаны информационные структуры первичных последовательностей цитохрома *c*, включающих полученные фрагменты. Компьютерное моделирование ADD- сайта позволило предложить замены а.о. на этом участке, изменяющие его конформационные свойства. Результаты анализа предлагаемых мутантных вариантов цитохрома *c* распределены в три группы. Первая группа мутантных вариантов содержит ADD+ сайт с равномерно распределённой плотностью ЭЛИС по фрагменту 76-83 а.о. цитохрома *c*. Вторая и третья группы содержат ADD+ сайт с плотностью ЭЛИС, смещённой от Met-80 либо к N-концевой, либо к C-концевой последовательностям цитохрома *c*, соответственно. Были получены мутантные гены P76R/G77I/T78L/K79V/I81V/F82S/A83R и P76R/G77R/T78E/I81S/F82A/A83I, относящиеся к третьей группе мутантных последовательностей. Конформационные изменения, возникающие при подвижности структурных блоков цитохрома *c*, локализованы на единственном в структуре белка сайте 76-83 а.о. пониженной плотности ЭЛИС первого ранга (ADD- сайте), где расположен остаток Met-80, взаимодействующий с атомом Fe гема, обеспечивающего электрон-транспортную активность цитохрома *c*. Для понижения конформационной подвижности ADD- сайта проведено моделирование информационной структуры цитохрома *c* на участке 76-83 а.о. Сконструирован ряд мутантных вариантов цитохрома *c*, включающих сайт повышенной плотности ЭЛИС на участке 76-83 а.о. белка. Полученные мутантные гены отвечают заданной информационной структуре цитохрома *c*.

Изучение функциональной зависимости между фотосистемами в ходе синхронного измерения индукции быстрой и замедленной флуоресценции и показателя $\Delta A820$ у зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*

Патрин Максим Михайлович

(Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва, octomax5@gmail.com)

В настоящее время актуальным является одновременное изучение процессов внутри фотосистемы II (ФСII) и фотосистемы I (ФСI). ЛП-тест является наиболее информативным методом изучения событий в донорной части ЭТЦ, с другой стороны кинетику окислительно-восстановительных процессов в ФСI оценивают по изменению поглощения света при 820 нм ($\Delta A820$). Для одновременной регистрации кинетики быстрой и замедленной флуоресценции реакционного центра ФСII и кинетики окислительно-восстановительного потенциала реакционного центра ФСI (P700) у зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* использовали мультифункциональный анализатор эффективности растений M-PEA 2 (Hansatech, UK). В качестве объекта исследований использовали культуру *Chlamydomonas reinhardtii* Dang. Функциональная зависимость между фотосистемами оценивалась экспериментально при различных внешних условиях: интенсивность действующего света; наличие ингибиторов (DCMU и гидроксилламин); выращивание на среде без содержания сульфатов.

Ингибиторный анализ в условиях насыщающей интенсивности света (5000 мкЕ) позволил предположить активацию компенсаторных путей электронного транспорта между фотосистемами. Диурон и гидроксилламин оказывают ингибирующие воздействие на донорную часть ЭТЦ, не затрагивая акцепторной части, т.е. ФСI, что можно наблюдать по показателю $\Delta A820$. Наиболее выраженное ингибирование наблюдается при росте культуры условиях «серного голодания», когда не наблюдается реокисления P700. Дополнительное введение диурона в таких условиях вызывает быстрое накопление P700. Описанная кинетическая модель учитывает функциональную зависимость между фотосистемами на основании данных о степени окисления реакционных центров фотосистем в различном временном диапазоне.

Синхронный анализ нескольких сигналов позволяет проводить комплексную оценку состояния фотосинтетической активности. Этот подход является дополнительным к другим методам исследования и позволяет получить количественные и качественные данные о взаимосвязи комплексов фотосистем. Написанная на основании экспериментальных данных модель может быть использована для задач экологического мониторинга.

Исследование кислородного статуса экспериментальных опухолей с использованием метода оптической диффузионной спектроскопии

Пряникова Татьяна Игоревна

(Нижегородский государственный университет им. Лобачевского, Россия, Нижний Новгород, tiryjanikova@mail.ru)

Кислородный статус опухоли рассматривается в настоящее время как один из ключевых факторов, определяющих прогноз заболевания и эффективность лечебных воздействий. В настоящей работе для оценки оксигенации опухоли предлагается метод оптической диффузионной спектроскопии (ОДС). Данный метод позволяет определять концентрацию окисленного (HbO_2) и восстановленного (Hb) гемоглобина в тканях и, соответственно, оценивать степень насыщения крови кислородом – параметр, отражающий кислородный статус опухоли. Целью исследования было определение возможностей метода ОДС для определения и мониторинга оксигенации экспериментальных опухолей в ходе естественного роста и ответа на терапевтическое воздействие. Эксперименты проводились с использованием двух опухолевых моделей: лимфосаркомы Плисса (ЛСП) и рака молочной железы крыс (РМК-1), различающиеся по своему гистологическому строению и ростовым характеристикам. По ОДС-данным рассчитывали двумерное распределение концентраций основных тканевых хромофоров в зоне опухоли, а так же уровень насыщения крови кислородом. Для верификации результатов использовали метод иммуногистохимического

анализа с экзогенным маркером гипоксии пимонидазолом. С целью определения возможностей метода ОДС для оценки изменений кислородного статуса опухоли была проведена серия экспериментов с использованием агента, повышающего микроциркуляторную перфузию – пентоксифиллина. Как показали проведенные эксперименты, модель ЛСП характеризуется повышенной концентрацией ННб и сниженным содержанием HbO_2 и уровня насыщения крови кислородом по сравнению с окружающими нормальными тканями. Для модели РМК-1 было продемонстрировано снижение концентрации HbO_2 в проекции опухолевого узла; при этом содержание ННб данного соединения в опухоли практически не отличалось от нормы. При действии пентоксифиллина наблюдалось снижение концентрации ННб (до уровня окружающих здоровых тканей) и повышение содержания HbO_2 . Таким образом, метод ОДС позволяет не только детектировать экспериментальные опухоли и получать информацию об уровне насыщения крови кислородом, но и изучать динамику уровня кислородного статуса опухолей.

Влияние соотношения липидов с различными типами полярных головок на свойства бислоя

Тарасова Наталья Константиновна¹, Пыrkова Д.В.², Ефремов Р.Г.²

(¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,

Биологический факультет, ²Институт биоорганической химии им. академиков М.М.

Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Россия, Москва, nktarasova@gmail.com)

Мембраны большинства клеток в основном состоят из липидов. Изменение соотношения между различными типами липидов может быть одним из механизмов реализации клеточной мембраной своих функций. Целью данной работы было исследование влияния соотношения липидов с цвиттерионным (диолеилфосфатидилолин, ДОФХ) и заряженным (диолеилфосфатидилсерин, ДОФС) головками на структурно-динамические свойства бислоя.

При помощи метода молекулярной динамики (МД) было исследовано 9 модельных гидратированных бислоев из ДОФХ и ДОФС в разных процентных соотношениях. Расчеты МД (~15 нс) были проведены в тяжело-атомном представлении при температуре 325 К с использованием программного пакета GROMACS v3.3.1.

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы. Общие свойства бислоя (геометрические параметры, параметры порядка ацильных цепей липидов и т.д.) меняются линейно в зависимости от концентрации липидов и не отражают наличие особенностей в исследуемых системах. Однако при более детальном изучении были выявлены следующие интересные закономерности, преимущественно при низких концентрациях ДОФС (соответствующих физиологическим). Взаимодействие ионов Na^+ в основном происходит с ацильными цепями молекул ДОФХ. Число контактов между ними максимально при 30% ДОФС в бислое. При этой же концентрации ДОФС полярная головка данного липида имеет наибольший угол наклона по отношению к нормали к бислою, а головка ДОФХ, напротив, наименьший. Кроме того, при низких концентрациях (до 30%) ДОФС происходит перекрытие ацильных цепей ДОФС из противоположных монослоев в центре бислоя, из чего можно сделать предположение о наличии «матрицы», создаваемой ДОФХ, в которую встраиваются молекулы ДОФС.

Таким образом, в изучаемых бислоях с различным соотношением ДОФС и ДОФХ было показано наличие необычной структуры и свойств при назком содержании ДОФС (менее 30%).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и программ РАН «Молекулярная и клеточная биология» и «Основы фундаментальных исследований нанотехнологий и наноматериалов».

Сравнительное исследование свойств мембранносвязанного и цитоплазматического гемоглобина в эритроцитах методами спектроскопий комбинационного и гигантского комбинационного рассеяния

Хабатова Венера Владимировна

(Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Россия, Москва, venera_khabatova@mail.ru)

Свойства плазматической мембраны и мембранных белков в эритроцитах меняются на ранних стадиях заболеваний сердечно-сосудистой системы. Такие модификации влияют на конформацию мембранносвязанного гемоглобина, взаимодействующего с цитоплазматическим участком трансмембранного белка.

В нашем исследовании изучаются свойства двух субпопуляций гемоглобина в эритроцитах: цитозольного и мембранносвязанного с помощью спектроскопий комбинационного (КР) и гигантского комбинационного (ГКР) рассеяния. ГКР регистрирует сигнал “поверхностно усиленного” КР, получаемого при использовании наночастиц (НЧ) благородных металлов. В нашей работе НЧ адсорбировали на мембране эритроцита. Возникающий поверхностный плазмонный резонанс на НЧ усиливает комбинационное рассеяние молекул, находящихся на расстоянии не более 15-20 нм от поверхности НЧ. Толщина мембраны клетки составляет около 10 нм. Оставшиеся 10 нм примембранной области содержит фракцию мембранносвязанного гемоглобина.

В работе исследовали изменение свойств цитоплазматического и мембранносвязанного гемоглобина при влиянии различных факторов окружения: показателя кислотности среды (варьировался в диапазоне 5 - 9,5 pH); жесткости плазматической мембраны, изменяющейся при встраивании или экстракции холестерина. Также проводилось КР-картирование эритроцита, на поверхности которого адсорбированы НЧ серебра и их агрегаты. Также были проведены *in vivo* эксперименты по КР-картированию сосудов участка головного мозга лабораторной мыши.

В результате исследования получено: цитоплазматический и мембранносвязанный гемоглобин имеют разную чувствительность к изменению кислотности среды в клетке, а также к изменению содержания холестерина в плазматической мембране. КР-картирование эритроцита с НЧ серебра на поверхности выявило возможность пространственно разделить КР-сигнал от цитозольного и ГКР-сигнал от мембранносвязанного гемоглобина. В результате КР-картирования *in vivo* сосудов мозга мыши было показано, что в сосуде локально меняется концентрация оксигенированного и дезоксигенированного гемоглобина.

Автор выражает искреннюю благодарность научным руководителям Браже Н.А., Браже А.Р., а также профессору Максимова Г.В. и сотрудникам лаборатории Паршиной Е.Ю. и Юсиповичу А.И. за помощь, советы и поддержку, оказанные в ходе выполнения данной работы.

Инулиназа как объект нанобиотехнологических исследований

Холявка Марина Геннадьевна

(Воронежский государственный университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Воронеж, holyavka@rambler.ru)

В последние годы при совершенствовании многих технологических процессов в пищевой и фармацевтической промышленности широко используются гидролитические ферменты в свободном и иммобилизованном состояниях. Одним из перспективных продуктов функционального питания является фруктоза, которая в настоящее время превратилась в популярный заменитель сахара. Фруктозу, в отличие от глюкозы, могут потреблять больные диабетом, она значительно менее вредна для зубов, чем сахар. Промышленное получение 95 % фруктозного сиропа может быть основано на применении иммобилизованной инулиназы (КФ 3.2.1.7). Иммобилизация – один из методов повышения стабильности ферментов к денатурирующим факторам, способствующий многократному использованию биокатализаторов, поэтому получение гетерогенных препаратов на основе иммобилизованных ферментов становится неотъемлемой частью современной нанобиотехнологической отрасли.

С целью получения стабильных и высокоактивных биокатализаторов для промышленного производства фруктозных сиропов нами была осуществлена иммобилизация инулиназы, выделенной из *Kluyveromyces marxianus* Y-303 различными методами на синтетических полимерных носителях. Показано, что наибольшую каталитическую активность проявляет фермент, адсорбированный на макропористой анонообменной смоле АВ-17-2П.

Очевидно, что разработка эффективных биокатализаторов на основе энзимов невозможна без детального изучения их структуры. В связи с этим для изучения надмолекулярной организации инулиназы из *Kluyveromyces marxianus* нами был использован комплексный подход, заключающийся в сочетании атомно-силовой микроскопии с методами инфракрасной спектроскопии, гель-хроматографии и электрофореза. Установлено, что инулиназа имеет олигомерную структуру, которая представлена двумя субъединицами, различающимися по размерам, молекулярной массе и каталитической активности. Показано, что при разделении димера, массой 63 кДа, на мономеры происходит увеличение числа нерегулярных участков, по сравнению с нативным ферментом, на 6 % для субъединицы № 1 (54,8 кДа) и на 10 % для субъединицы № 2 (8,4 кДа). Каталитическая активность отдельных мономеров инулиназы значительно ниже активности димера, что указывает на важный вклад надмолекулярной организации и диссоциации-ассоциации субъединиц в процесс регуляции механизмов реакции гидролиза полисахаридов.

Влияние гидратированных фуллеренов C60 на активность ферментов Яблонская Ольга Игоревна, Воейков В.Л.

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, olga.yablonsky@gmail.com)

Установлено, что гидратированные фуллерены C60 (HuFn) в концентрациях меньших чем 10^{-13} М стабилизируют пероксидазу, щелочную фосфатазу и бактериальную люциферазу, а также оказывают влияние на величины разброса данных и стандартного отклонения при определении активности ферментов в параллельных образцах. Существует гипотеза, согласно которой фуллерены, растворенные в воде по особой методике, образуют вокруг себя сферические водные кластеры динамически организованной воды. Физические и химические характеристики воды в кластере отличаются от объемной воды. Учитывая низкие концентрации фуллеренов в образцах, эффект гидратированных фуллеренов невозможно объяснить прямым влиянием фуллеренов на ферменты. Высказано предположение, что C60 образуют водные динамические кластеры, представляющие собой особые антиоксидантные среды, способные модулировать и регулировать протекание окислительно-восстановительных и свободнорадикальных процессов, к которым ферменты проявляют значительную чувствительность. В пользу этого предположения свидетельствует изменение кинетики ферментативных процессов в реакционных сосудах в присутствии пластинок полимера нафiona, характеризующегося способностью образовывать широкий слой динамически организованной воды, обладающей особыми окислительно-восстановительными свойствами.

В рамках данной работы было изучено влияние гидратированных фуллеренов в широком диапазоне концентраций на 3 ферментные тест-системы. Были продемонстрированы стабилизирующие свойства HuFn на изученные ферменты при длительном хранении и после термической инактивации. В доказательство предположения, что влияние гидратированных фуллеренов опосредовано водной средой реакции, получены данные о влиянии пластинок «нафiona» на активность пероксидазы и щелочной фосфатазы.

Atomic force microscopy study of cell rearrangements and cell surface during *Xenopus laevis* embryo development.

Efremov Yuri, Pukhlyakova E.

(Moscow State University, Faculty of Biology, Russia, yu.efremov@gmail.com, ekaterina24_87@mail.ru)

Atomic force microscopy (AFM) has become a powerful tool for imaging biological structures from single molecules to living cells and carrying out force measurements. AFM provides three-dimensional high-resolution images of the studied biological objects in physiological environment.

Xenopus laevis embryos at different stages of development were studied with AFM. During the experiments the embryos were tightly fixed in the holes of the agarose substrate and imaged in contact mode in buffer solution or cultivation medium.

We have received AFM images of different poles of embryos at various stages of developmental. AFM data were compared with the results obtained with scanning electron microscopy (SEM). AFM investigation of fixed embryos allows us to obtain data similar to SEM, but it does not require complex sample preparation and treatment. Moreover, we have shown that AFM can be applied to study live embryos and visualize cell movements on the embryo surface *in vivo*. Thus the changes of quantity and distribution of microvilli on cell surface and the cytoskeleton remodeling can be observed.

We have shown that AFM is a powerful and convenient tool to study both fixed and living cells, tissues and developmental organisms. Our findings allow us to recommend AFM to study embryo growth and development and the influence of various drugs/bioactive compounds on these processes.

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

Изучение продольного профиля pH вакуолярного сока в клетках *Chara corallina* методом внутриклеточной перфузии

Алова Анна Владимировна

(Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, кафедра биофизики, Россия, Москва, annaalova@gmail.com)

На свету клетки харовых водорослей формируют чередующиеся зоны, которые отличаются по свойствам плазматической мембраны, а также по свойствам периферического слоя хлоропластов. Неоднородные профили pH в апопласте скоординированы с профилями флуоресценции и активности фотосинтеза. Природа тесной взаимосвязи между фотосинтетической активностью хлоропластов и мембранными процессами остается не раскрытой. Существуют предположения, что эта связь опосредована изменениями ионного состава цитоплазмы, в частности изменениями активности ионов H⁺ и Ca²⁺. В нашей работе с помощью метода фиксации напряжения показано, что кинетика потенциалозависимых ионных токов через плазматическую мембрану зависит от условий освещения. Инактивация Cl⁻ тока, индуцированного коротким импульсом деполяризации, происходила быстрее в темноте, чем на свету. Это может быть обусловлено pH-зависимым изменением уровня Ca²⁺ в цитоплазме, который открывает Cl⁻ каналы.

При изучении взаимосвязи между работой плазматической мембраны и хлоропластов представляется перспективным использование такой модельной системы как перфузируемая клетка. Этот метод позволяет устранить тонопласт и получить непосредственный доступ к слою хлоропластов, которые остаются фиксированными в непосредственной близости от плазмалеммы. В ходе проведения перфузии регистрировали изменения pH и параметров флуоресценции хлоропластов. В качестве дополнительного показателя, отмечающего замену вакуолярного сока на искусственную среду, измеряли флуоресценцию флуоресцеина, добавленного в перфузионный раствор. Измерения pH вакуолярного сока, протекающего через клетку в процессе перфузии, позволяют оценить время перфузии, распределение вакуолярного pH по длине клетки, выявить момент разрушения тонопласта. При перфузии раствором с низким содержанием Ca²⁺ уровень флуоресценции остается высоким, хлоропласты сохраняют реакцию на свет и способность к нефотохимическому тушению.

При промывке клеток раствором с высокой концентрацией Ca^{2+} уровень флуоресценции уменьшается. Сделан вывод, что изменения $[\text{Ca}^{2+}]$ в цитоплазме могут регулировать активность фотосинтеза.

Антиоксидантный эффект ксантозина *in vitro* и *in vivo*.

Асадуллина Нелли Рустамовна, Гудков С.В.

(Учреждение российской академии наук институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Россия, Пуцино, micronelly@rambler.ru)

Активные формы кислорода (АФК) постоянно образуются в аэробных клетках в процессе нормального метаболизма, а так же при воздействии факторов среды (ионизирующее излучение, тепло и др.). Увеличение внутриклеточной концентрации АФК свыше уровня антиоксидантной защиты вызывает «окислительный стресс», приводящий к необратимым повреждениям и гибели организма. Поэтому поиск и изучение новых природных антиоксидантов является актуальной задачей. Целью данной работы было изучение с помощью различных тест-систем антиоксидантных свойств ксантозина.

С помощью метода усиленной химилюминесценции и специфической флуоресцентной ловушки для гидроксильных радикалов кумарин-3-карбоновой кислоты, исследовано влияние ксантозина в диапазоне концентраций 0,02-1 мМ на генерацию перекиси водорода и гидроксильных радикалов в водном растворе при воздействии рентгеновского излучения в дозах 1-7 Гр. Установлено, что количество образовавшихся АФК линейно зависит от поглощенной дозы, а ксантозин уменьшает количество перекиси водорода и гидроксильных радикалов, генерируемых рентгеновским излучением в водных растворах в несколько раз. Используя иммуноферментный анализ, с применением специфических в 8-оксогуанину (8-ОГ) антител, исследовано влияние ИМФ в диапазоне доз 0,02-1 мМ на образование в ДНК *in vitro* 8-ОГ-биомаркера окислительного повреждения, при воздействии рентгеновского излучения в дозах 1-7 Гр. Методом собственной люминесценции белковых растворов показано, что ксантозин эффективно элиминирует *in vitro* долгоживущие белковые радикалы бычьего сывороточного альбумина индуцированные рентгеновским излучением. При внутрибрюшинном введении ксантозина (45 мкг/г) самцам мышей Kv:SHK за 15 минут перед облучением наблюдается некоторое увеличение выживаемости, а при введении за 15 минут после облучения наблюдается значительное увеличение выживаемости опытных животных. Таким образом, в данной работе показано, что ксантозин проявляет существенный антиоксидантный эффект *in vitro* и *in vivo*.

Работа поддержана грантами Российского фонда фундаментальных исследований (10-04-00949-а; 10-04-00800-а) и Президента Российской Федерации для поддержки молодых российских ученых (МК-108.2010.4).

Исследование связывания комплекса блокатора калиевых каналов с квантовыми точками в изолированном нейроне

Березуцкая Мария Александровна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, berezutskaya@hotmail.com)

В настоящее время одним из актуальных направлений в современной биологии является определение структуры и функций мембранных и мембранно-связанных белков. В связи с низким уровнем биосинтеза многих мембранных белков в биологических тканях основным источником этих белков для структурно-функциональных исследований являются рекомбинантные белки. Для проверки правильности укладки полипептидной цепи целевого белка в мембране используют тесты, связанные с изменением функциональной активности белка, а также способностью связывать лиганды[3].

В данной работе рассматривали новый метод определения правильности фолдинга калиевых каналов, используя комплекс агитоксина (AGTx) с квантовыми точками CdTe. Известно, что агитоксин эффективно блокирует калиевые каналы, в то время как действие комплекса агитоксина с квантовыми точками не было изучено. Работу комплекса изучали на калиевых каналах изолированного нейрона пиявки *Hirudo medicinalis*.

Определение связывания комплекса агитоксина (AGTx) и квантовых точек CdTe с калиевым каналом проводили с помощью флуоресцентной микроскопии. Основное преимущество квантовых точек CdTe перед органическими красителями состоит в высокой фотостойкости, возможности направленного регулирования длины волны флуоресценции, высоких квантовых выходах. Для проверки эффективности работы комплекса блокатора с квантовыми точками добавляли 4-аминопиридин (4-АП), который также является блокатором калиевых каналов. После добавления 4-АП большей концентрации происходит вытеснение комплекса CdTe с AGTx с поверхности калиевых каналов. Поскольку в 4-АП не добавляли флуоресцентные зонды, то флуоресценция нейрона заметно уменьшалась, это свидетельствует о том, что комплекс агитоксина с квантовыми точками является эффективным блокатором калиевых каналов.

В результате проведенного исследования было показано, что комплекс агитоксина с квантовыми точками CdTe эффективно работает и его можно применять при определении правильности фолдинга калиевых каналов.

Влияние электромагнитного поля на активность АТФ-гидролазы зародышей выюна на этапах раннего эмбриогенеза

Бура Марта Владимировна¹, Мандзинец С. М.¹, Яремкевич Е. С.²

(¹Львовский национальный университет имени Ивана Франко, ²Национальный университет «Львовская Политехника», Украина, Львов, mcelevych@yahoo.com)

Процессы взаимодействия электромагнитного поля (ЭМП) с живой клеткой или организмом, особенно с зародышем, очень сложные и на данное время недостаточно изучены. Целью исследования было определение влияния ЭМП на активность Na^+ , K^+ -АТФазы (маркер плазматической мембраны и тест-система) зародышей выюна на этапах раннего эмбриогенеза в условиях *in vivo*. Объектом исследования были зародыши выюна (*Misgurnus fossilis* L.) в период раннего эмбриогенеза. Пробы отбирали на стадиях 2, 16 и 64 бластомеров, 8 и 10 делениях. Электромагнитная обработка зародышей проводилась с помощью генератора ЭМП. Инкубированные в растворе Гольфретера зародыши после оплодотворения размещали в центре соленоида и 15 мин воздействовали на них ЭМП (частота 27,14 МГц). Оптимальные условия подобраны экспериментально. Активность Na^+ , K^+ -АТФазы зародышей определяли модифицированным методом Фиске-Суббароу, количество белка в пробе – методом Лоури. Под влиянием ЭМП выявлено достоверное изменение активности Na^+ , K^+ -АТФазы в сравнении с контролем. Самую малую реакцию зародышей на влияние ЭМП выявили на первом часу развития (2 бластомеры) – активность АТФазы снизилась на $19,3 \pm 0,9\%$ ($p < 0,05$). Возможно, такие изменения связаны с очень низкой чувствительностью зародышей к воздействию экзогенных факторов на ранних этапах бластуляции. На следующих этапах деления тоже установлено статистически достоверное более выраженное снижение активности АТФазы за действия ЭМП в сравнении с контролем в среднем на $53,6\%$ ($p < 0,001$).

Известно, что ключевую роль в биологических эффектах ЭМП играет изменение магнитоэлектрических свойств молекул воды, входящих в состав клеточных мембран. ЭМП будет вызывать отклонение траектории движения Na^+ , K^+ , Mg^{2+} через ионные каналы, соответственно инактивацию мембранозависимых энзимов вследствие отсутствия транспорта. Кроме того, ЭМП влияет на окисление SH-групп, с которыми связаны многие биологические процессы: проницаемость клеточных мембран, функции рецепторов, активность ферментов, структура биомолекул, а также клеточное деление, нарушение которого отмечено в предыдущих экспериментах.

Работа выполнена при финансовой поддержке Державного фонда фундаментальных исследований, проект № Ф25.5/075. Авторы выражают благодарность д.б.н. Санагурскому Д.И. и к.т.н. Яремкевичу С.К. за помощь в проделанной работе и подготовке тезисов.

Образование активных форм кислорода под действием ионов уранила *in vitro*

Гармаш Светлана Анатольевна, Гудков С.В.

(Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пуцинский государственный университет, Пушино, Россия, daradysha@rambler.ru)

В настоящее время обедненный уран используется в качестве балласта в судах, самолетах и для изготовления броневой брони, а также для придания цвета стеклу и керамике. Показано, что обедненный уран может быть причиной заболеваний неясной этиологии. Кроме того, опубликовано несколько работ, в которых показано, что обедненный уран может являться причиной повреждения ДНК, мутагенеза и канцерогенеза.

Нами исследовано влияние обедненного урана на образование активных форм кислорода (АФК), в частности перекиси водорода, как наиболее долгоживущей из АФК и гидроксильных радикалов, как наиболее реакционноспособных. Использовали уранилнитрат, ионы уранила являются наиболее стабильными оксидами урана, образующимся при его автоокислении в присутствии кислорода. В качестве отрицательного контроля для уранилнитрата использовали нитрат натрия.

Концентрацию перекиси водорода измеряли с помощью метода усиленной хемилюминисценции в системе люминол-параоксидфенол-пероксидаза с использованием жидкостного сцинтиляционного счетчика «Бета 1» (Украина), измерение концентрации гидроксильных радикалов производили с помощью флуоресцентного зонда кумарин-3-карбоновой кислоты.

Впервые показано образование перекиси водорода и гидроксильных радикалов под действием ионов уранила (в виде уранилнитрата) *in vitro*. Установлено, что генерация активных форм кислорода (АФК) в водных растворах содержащих ионы уранила происходит более интенсивно при повышении температуры и воздействии на растворы электромагнитных волн видимого спектра. Показано, что присутствие в водных растворах нитрат анионов приводит к незначительному влиянию на процесс образования АФК при воздействии тепла и света. Образование перекиси водорода и гидроксильных радикалов сильно зависит от концентрации ионов уранила (5, 10, 50, 100, 200, 500 мкМ) в растворе. С ростом концентрации уранилнитрата показано увеличение образования перекиси водорода и гидроксильных радикалов при действии тепла и света.

Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований 10-04-01265-а.

Исследование антикоагулянтной активности ДНК-аптамеров *in vitro* и *in vivo*

Завьялова Елена Геннадиевна^{1,2}, Решетников Р.В.^{2,3}, Головин А. В.^{2,3}, Пантелеев Д.Ю.^{2,4},

Мудрик Н. Н.², Павлова Г.В.^{2,4}, Копылов А. М.¹

(¹ Московский Государственный университет им. М.В. Ломоносова, Химический факультет, ²ООО «АПТО-ФАРМ», ³Московский Государственный университета им. М.В.

Ломоносова, Факультет Биоинженерии и Биоинформатики, ⁴Институт биологии гена РАН, Россия, Москва, zlenka2006@rambler.ru)

ДНК-аптамеры – перспективная альтернатива антителам в терапии и диагностике. Работа посвящена исследованию ингибирующей активности ДНК-аптамеров к тромбину в плазме крови млекопитающих, а также *in vivo* при болюсном введении препаратов крысам. Эффективность ДНК-аптамеров тестировалась на стандартной плазме крови человека с помощью автоматического коагулометра ВСТ (Dade Behring). Для исследований *in vivo* крысам линии Wistar болюсно через яремную вену вводились препараты, отбор образцов крови производился из симметричной вены. Новый аптамер RA-36 (10 кДа), разработанный на основе изучения стабильности G-квадруплексной структуры методами молекулярной динамики, исследован наряду с известными аналогами: 15-ТВА (5 кДа), 31-ТВА (10 кДа), NU172 (10 кДа), NU2. Показано, что тромбиновое, протромбиновое и активированное частичное тромбопластиновое время увеличиваются дозозависимо при добавлении аптамеров в концентрации 0,5-2 мкМ. Наиболее эффективным ингибитором оказался новый аптамер RA-36, удваивающий протромбиновое время стандартной плазмы человека при концентрации 1,5 мкМ. Протромбиновое время плазмы крыс не изменяется при добавлении

RA-36, что указывает на видоспецифичность нового аптамера, в то же время 31-ТВА проявляет антикоагуляционную активность в этих условиях. *In vivo* исследование скорости выведения аптамеров из крыс показало одинаковые результаты для RA-36 и 31-ТВА: время полувыведения составило 7 минут. Аптамер NU2, обладающий наибольшей молекулярной массой, выводится из крови крыс более 40 минут, сохраняя плато эффективности в течение 20 минут. Таким образом, новый аптамер RA-36 обладает дозозависимой антикоагулянтной активностью и видоспецифичностью. Аптамер нетоксичен и выводится из крыс за 15 минут. *In vivo* эксперименты показали корреляцию между массой аптамеров и временем их выведения. Эти данные, а также распределение аптамера по органам, указывают на выведение аптамеров почками.

Работа поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации, госконтракт № 16.512.11.2009

Получение микрокапсул из поли-3-гидроксibuтирата и изучение высвобождения нипкапсулированного в них белка *in vitro*

Зернов Антон Лаврентьевич, Иванов Е.А.

(Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Биологический факультет, Институт биохимии имени А. Н. Баха РАН, Москва, Россия, alto6a@gmail.com)

Разработка и исследование полимерных систем для контролируемого высвобождения (ПСКВ) биологически активных веществ (БАВ) белковой природы – перспективное направление в современной биотехнологии. В настоящее время поли-3-гидроксibuтират (ПГБ), привлекает большое внимание как биodeградируемый и биосовместимый полимер. Он перспективен для создания широкого спектра ПСКВ (микро- и наносфер, микро- и нанокапсул, матриц, резервуаров). В данной работе рассматриваются микрокапсулы из ПГБ разных молекулярных масс (ММ) (33-1000 кДа), загруженные модельным белком, человеческим сывороточным альбумином (ЧСА) и созданные по методике двухэтапного эмульгирования двух различных вариаций: водная фаза / масляная фаза / водная фаза (W/O/W) и водная фаза/масляная фаза/масляная фаза(W/O/O). Опыты *in vitro* по высвобождению белка из микроструктур проводились в условиях, моделирующих внутреннюю среду организма, в 25 мМ калий-фосфатном буфере, pH 7.4, при 37°C. Микрокапсулы, созданные по разным методикам, отличались по характеру высвобождения ЧСА. В методике W/O/W почти все загружаемое вещество аккумулировалось внутри капсул в довольно малом количестве. Это объясняется тем, что водорастворимые белки легко мигрируют в водную фазу в ходе итогового эмульгирования. В другом случае, при применении методики W/O/O не происходило вымывания, а белок, не вошедший внутрь капсул, легко адсорбировался на их поверхности. Доля загруженного белка была большей, чем в методике W/O/W. Вклад ММ полимера, из которого изготовлены капсулы, в кинетику выхода вещества из микроструктур оказался определяющим по сравнению с другими параметрами, например, концентрацией полимера. Чем меньше была ММ полимера, тем быстрее капсулы разрушались. В то же время адсорбция БАВ при применении методики W/O/O была тем сильнее, чем больше была ММ полимера.

Работа выполнена в рамках реализации ФЦП Минобрнауки РФ (ГК №№ П2266, П548, П2429).

Авторы благодарят с.н.с. биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, к.б.н. Бонарцева Антона Павловича, а также сотрудников Института биохимии РАН им. А.Н. Баха: с.н.с., к.б.н. Бонарцеву Гарику Александровну и н.с. Махину Татьяну Константиновну.

Влияние природных антиоксидантов на морфологическое состояние перитонеальных макрофагов крыс.

Камалетдинова Татьяна Рашидовна.

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, kamaletdinovat@gmail.com)

Исследуемый нами объект – перитонеальные макрофаги крыс – клетки, играющие значительную роль как в начальном ответе на инфекцию, так и в формировании специфического иммунного ответа. В связи с этим изучение воздействия на них биологически активных веществ, обладающих антиоксидантными свойствами, чрезвычайно актуально.

Данная работа проводилась с целью определения морфологического состояния перитонеальных макрофагов крыс, инкубированных с известными природными антиоксидантами, обладающими разными механизмами действия, – карнозином, таурином и восстановленным глутатионом. Для проведения исследований инкубировали суспензию клеток с антиоксидантами (конечная концентрация составляет $10^{-3}M$), затем фиксировали клетки через разные промежутки времени после начала инкубации (0, 15, 30 и 60 минут). Полученные образцы оценивали при помощи метода Лазерной Интерференционной Микроскопии (ЛИМ).

Известно, что *in vitro* макрофаги способны выполнять фагоцитарную функцию только после активации - осадения на подложку и распластывания; происходит выброс некоторых белков, что сопровождается незначительным уменьшением вещества. Было обнаружено, что у клеток в контрольных образцах со временем достоверно увеличивается площадь, снижается высота, уменьшается количество вещества, что свидетельствует об активации. При этом не было выявлено значительных изменений количества вещества в макрофагах со временем (максимальное изменение составило не более 30%), что говорит о том, что клетки остаются живыми. Макрофаги, инкубированные с карнозином или восстановленным глутатионом, не переходят в активную форму. Для клеток в этих пробах не наблюдаем достоверного увеличения площади, достоверного уменьшения высоты и количества вещества, что связано с действием этих антиоксидантов на систему активации клетки. Таурин оказывает подобное действие, но в меньшей степени, т.к. наблюдается достоверные изменения количества вещества.

Данные, получаемые таким образом, могут использоваться как хороший диагностический признак воздействия новых антиоксидантов на клетки.

Исследование влияния излучения He-Ne-лазера на важнейшие биологические молекулы

Капралова Ангелина Владимировна

(Институт Лазерной Физики СО РАН, НГТУ, Новосибирск, Россия, kapralova@ngs.ru)

Одной из актуальных задач молекулярной биофизики является изучение влияния электромагнитного излучения на важнейшие биополимеры: нуклеиновые кислоты и белки. В настоящей работе проводилось исследование влияния He-Ne-лазера на белки, представляющие различные классы белковых молекул. Это ферментативный белок трипсин, транспортный белок бычий сывороточный альбумин (БСА) и гемоглобин.

В нашем исследовании источником излучения служил He-Ne-лазер с длиной волны - 633 нм (474 ТГц) и интенсивностью излучения $\sim 3,6$ мВт/см². Для экспериментов использовались лиофилизированные порошковые белковые препараты фирмы Sigma. Действие лазерного излучения на белковые молекулы оценивалось с помощью УФ спектроскопии. УФ спектры водных растворов облучённых и необлучённых (контрольных) белковых образцов регистрировались на спектрофотометре SHIMADZU UV-3101PC.

В результате серии проведенных экспериментов было установлено следующее. Судя по результатам УФ спектрофотометрии, излучение He-Ne-лазера ($\lambda = 633$ нм) влияет на конформацию всех изученных белков. Наиболее выраженные изменения наблюдаются при облучении БСА. Происходит значительное увеличение оптической плотности в УФ спектре на характеристических для белка областях поглощения: амидной полосе (200...250 нм) и

триптофановой полосе (в области 280 нм). Изменения УФ спектра трипсина после облучения выражены гораздо слабее и проявляются только на полосе 200...230 нм. Поглощение УФ излучения гемоглобином после облучения He-Ne-лазером незначительно снижается, то есть оптическая плотность уменьшается.

Повышение оптической плотности в УФ спектре БСА и трипсина обусловлено изменением их молекулярной конформации, что «улучшает» доступ излучения к белковым хромофорам. Такой вывод хорошо подтверждается имеющимися литературными данными. Что касается гемоглобина, уменьшение его оптической плотности в УФ спектре после облучения может быть связано с переходом его из дезоксигенированной формы в оксигенированную. Сравнение паспортных УФ спектров этих форм гемоглобина свидетельствует о более низкой оптической плотности оксигенированной формы практически во всём УФ диапазоне. Однако в этом направлении требуются дополнительные исследования.

Функциональные микрокапсулы на основе живых клеток

Коннова Светлана Анатольевна, Дзамукова М.Р., Замалева А.И.

(Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань, Svetaka@mail.ru)

Разработка методов инкапсуляции биомакромолекул, фармакологически активных веществ и других объектов является актуальным направлением современной биологии. Новые возможности открывает инкапсуляция живых клеток для практических приложений в разных областях микробиологии, биотехнологии и тканевой инженерии, поскольку создаваемые микрокапсулы могут служить дополнительной защитой клеток от негативных факторов окружающей среды, применяться для создания биологических микрореакторов и т.д. В настоящей работе описано получение функциональных капсул на основе живых микроорганизмов, обладающих способностью к перемещению в пространстве с помощью внешнего магнитного поля.

Объектами исследования стали микроорганизмы, такие как: дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, водоросли *Chlorella rupeoidosa* и конидии *Trichoderma asperellum*. Для формирования микрокапсул была использована агароза, так как она является биосовместимым материалом и обладает гелеобразующими свойствами. Клетки инкапсулировали в агарозные шарики методом эмульсификации обратного типа (вода-в-масле). После этого проводили функционализацию полученных микрокапсул путем адсорбции магнитных наночастиц на поверхности капсул.

В результате были получены агарозные микрокапсулы, содержащие живые клетки внутри. Модификация магнитными наночастицами придавала капсулам парамагнитные свойства, что дало возможность осуществлять направленную манипуляцию и перемещение инкапсулированных клеток с помощью магнита. Флуоресцентными методами витального окрашивания клеток было доказано, что инкапсулированные клетки сохраняют жизнеспособность и физиологическую активность. Кроме того, была показана проницаемость агарозной мембраны микрокапсул для различных жидкостей.

Таким образом, нами разработан изящный и простой метод инкапсуляции живых клеток с дополнительной функционализацией микрокапсул. Мы полагаем, что получение таких функциональных микрокапсул позволит регулировать различные свойства, функции и метаболическую активность клеток.

Авторы выражают благодарность старшему преподавателю кафедры биохимии КФУ, к.б.н. Фахруллину Р.Ф.

Иммобилизация биологически активных веществ на коллагене

Макарова Екатерина Леонидовна, Ковалева Т.А.

(Воронежский государственный университет, Россия, Воронеж, makarova7809@mail.ru)

В настоящее время особую значимость приобретают работы по изучению структурно-функциональных свойств белков соединительной ткани, в том числе коллагена и его производных как носителей биологически активных веществ.

Применение природных биополимеров, полностью утилизируемых организмом, то есть перевариваемых и замещаемых собственными тканями, исключает опасность накопления матрицы носителя в организме человека.

Материалом для исследования послужили глюкоамилаза из *Aspergillus awamori*, препарат Г20Х производства Ладыжинского завода ферментных препаратов, подвергнутый специальным методом очистки и в качестве носителя коллаген, выделенный ферментативным методом из соединительной ткани крупного рогатого скота. Имобилизацию проводили адсорбционным методом в статических условиях при периодическом перемешивании

Установлено, что иммобилизованный фермент проявляет максимальную каталитическую активность при температуре 55⁰С, что на 5⁰С выше, чем для свободного энзима. При иммобилизации глюкоамилазы на коллагене наблюдается расширение диапазона значений рН (4,5-5,0), при которых имеет место максимальная каталитическая активность. Экспериментальные данные показывают, что при 10-кратном применении иммобилизованного фермента сохраняется 66,25% каталитической активности свободного фермента при однократном применении. Установлено, что каталитическая активность фермента и содержание белка в иммобилизованном на коллагене препарате, который хранился в лабораторных условиях, не изменялись в течение 2 лет.

Наши исследования показали что, глюкоамилаза, иммобилизованная на коллагене, по сравнению со свободной глюкоамилазой более стабильна к воздействию внешних факторов. В медицине иммобилизация открыла путь к созданию лекарственных препаратов со сниженной токсичностью и аллергенностью. Иммобилизация высокоактивных веществ на коллагене способствует решению проблемы направленного транспорта лекарств в организме и пролонгированному действию полученных препаратов по сравнению с лекарственными соединениями традиционных форм.

Трансфекция лигандированными полиплексами клеток меланомы *in vitro* и *in vivo*.

Малышева Валерия Юрьевна^{1,2}, *Дурыманов М.О.*^{1,2}, *Уласов А.В.*², *Храмцов Ю.В.*²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, ²Институт биологии гена РАН, Москва, Россия, valery.maly@gmail.com

Генная терапия является актуальным разделом современной молекулярной медицины. Ранее нами были созданы комплексы (ПЭИ-ПЭГ-МК1С) на основе поликатиона полиэтиленimina (ПЭИ), конъюгированного с полиэтиленгликолем (ПЭГ) и пептидом МК1С, являющимся лигандом к меланокортиновым рецепторам первого типа, сверхэкспрессированным на поверхности клеток меланом человека и мыши.

Мы оценили эффективность трансфекции клеток-мишеней лигандированными и нелигандированными полиплексами как *in vitro*, так и *in vivo*. Эксперименты проводили на клетках мышинной меланомы Клаудмана S91 (клон М3) и на линии человеческих эмбриональных клеток почки НЕК-293. Эффективность трансфекции клеток мышинной меланомы оценивалась по уровню экспрессии репортерных генов люциферазы и GFP. Опыты *in vitro* показали, что уровень трансфекции клеток лигандированным полиплексом на два порядка выше, чем в случае с нелигандированным: 4,8·10⁹ и 3,2·10⁷ отн. ед./мг белка, соответственно. Лигандированный полиплекс эффективнее трансфицирует клетки меланомы по сравнению с нелигандированным аналогом, в то время как на клетках линии НЕК-293, не обладающих рецепторами к данному лиганду, этой разницы не обнаруживается. Конкуренция со свободным α-меланоцит-стимулирующим гормоном (природным лигандом меланокортиновых рецепторов) снижает уровень трансфекции лигандированными полиплексами и не влияет на эффективность трансфекции клеток мышинной меланомы нелигандированными полиплексами. Таким образом, увеличение эффективности трансфекции клеток-мишеней в случае лигандированного полиплекса происходит за счет включения МК1С в состав полиплекса. Добавление к клеткам меланомы хлорпромазина, ингибитора клатрин-зависимого пути эндоцитоза, приводило к снижению уровня трансфекции лигандированными полиплексами до уровня нелигандированных аналогов. Это свидетельствует о значительном вкладе клатрин-зависимого рецептор-опосредованного пути

в процесс интернализации лигандированных комплексов. В экспериментах *in vivo* на мышах DBA/2у с мышинной меланомой Клаудмана S91 (клон М3) обнаружено, что при внутриопухолем введении лигандированный полиплекс трансфицировал опухоли в 2,6 раза эффективнее, чем его нелигандированный аналог (оценка трансфекции по экспрессии люциферазы).

Биологические эффекты радиочастотного излучения GSM диапазона

Песня Дмитрий Сергеевич, Романовский А.В.

(Ярославский Государственный Университет им. П.Г. Демидова, Институт Биологии Внутренних Вод им. И.Д. Панапина РАН, Россия, Ярославль)

В современном обществе возрастает перспектива использования радиочастотных излучений в различных сферах деятельности (от информационных технологий до медицины). Широкое распространение получила беспроводная связь, такая как сотовая, WiFi, WiMAX и т.д. В связи с этим актуально изучать биологическое действие радиочастотного излучения. Важной прикладной задачей является изучение биологического действия используемых под беспроводную связь т.н. бытовых частот. Основной целью нашей работы являлось в ходе экспериментов проанализировать возможное влияние УВЧ излучения на примере обычных сотовых телефонов.

Для экспериментов был выбран Allium test - метод, который рекомендован экспертами ВОЗ в качестве стандарта. В качестве тест-объекта использовались корневые меристемы *Allium cepa L.*, клетки которых по чувствительности приближаются к клеткам крови человека. В ходе эксперимента ставилось три группы опытов. Контрольная (не облучалась), первая и вторая опытные группы. Первая группа подвергалась облучению 1 час в сутки (в сумме 3 часа), а вторая 3 часа (суммарно 9 часов).

Макроскопические замеры показали, что УВЧ излучение сотовых телефонов оказало значительное стимулирующее действие на прирост корней *Allium cepa* (максимальный прирост отмечался во второй группе). В ходе микроскопических исследований было установлено, что УВЧ излучение обладает митозомодифицирующей активностью (в целом стимулирующей). Одновременно со стимулирующим эффектом, был зарегистрирован значительный мутагенный эффект.

Таким образом, УВЧ излучение сотовых телефонов при данных продолжительностях экспозиции стимулирует жизненные процессы на микро- и макроуровнях, то есть приводит к эффекту гормезиса, однако отмечались и патогенные эффекты. УВЧ излучение сотовых телефонов индуцирует в меристемах *Allium cepa* появление мутаций, при этом как в делящихся, так и в не делящихся клетках. Частота мутаций при увеличении продолжительности воздействия достоверно возрастает, что говорит о кумуляции мутагенного эффекта. По результатам наших работ была разработана электронная таблица для генотоксикологических исследований, а также составлен видео-атлас наиболее характерных мутаций, приведенный на сайте ИПЭ им. В.А. Котельникова РАН, <http://jre.cplire.ru/jre/library/4conf/docs/pdf/files/atlas.wmv> (атлас мутаций). Дополнительная информация есть на нашем сайте: <http://sites.google.com/site/alliumtestpublic/Main>

Особенности взаимодействия новых антиоксидантов с мембранами эритроцитов и липосом

Рахбанова Зарина Магдатовна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, fatfree23@gmail.com)

Новые антиоксиданты – натриевая соль карбоксилированного 2,5-дитретибутил ацетил тирозина (вещество 1), 2,5-дитретибутил ацетил тирозин (вещество 2) и этиловый эфир 2,5-дитретибутил ацетил тирозина (вещество 3), синтезированные в ИБХФ РАН, представляют собой производные L-тирозина. Фрагмент, представленный экранированным фенолом, обеспечивает антиоксидантные свойства, в то время как алифатические заместители – различие антиоксидантов по гидрофобным свойствам.

Методами спиновых зондов было изучено влияние антиоксидантов на мембрану липосом. В работе были использованы два зонда: 5- и 16-доксил стеарат (ДС), представляющие собой стеариновую кислоту с парамагнитными фрагментами у разных углеродных атомов (5 и 16 – для 5 и 16ДС, соответственно). Зонда 16ДС позволяет получить информацию об изменениях в глубоких областях внутримембранного пространства (2.2 нм), зонд 5ДС используют для получения информации об изменениях, происходящих ближе к поверхности мембраны (0.6 нм). На основании анализа спектров ЭПР установлено, что вещество 2 и вещество 3 уменьшают микровязкость мембраны, в то время как вещество 1 вызывает увеличение микровязкости мембраны. Наряду с этим, была произведена оценка гидрофобности исследованных соединений. Для этого были вычислены теоретические значения коэффициентов распределения в системе октанол-вода (Kow) с использованием программы EpiSuit (KowWin), в основу которой положен метод суммирования гидрофобности фрагментов соединения. Значения коэффициентов распределения увеличивались в ряду вещество 1, вещество 2, вещество 3 и составляли -0.50, 3.59 и 4.45, соответственно. Исследовано влияние антиоксидантов на мембрану эритроцитов. При встраивании в мембрану антиоксидантов форма эритроцитов может изменяться вследствие изменения соотношения площадей наружного и внутреннего монослоев плазматической мембраны. Эритроциты могут изменять свою нормальную дискоидную форму и превращаться в эхиноциты, если увеличивается площадь наружного монослоя, и в стоматоциты, если увеличивается площадь внутреннего монослоя. Изменение формы эритроцитов при действии экзогенных соединений позволяет судить о распределении веществ во внутримембранном пространстве.

Полученные результаты позволяют сделать предположения о способности антиоксидантов – производных L-тирозина - интеркалировать в мембрану и их возможной локализации во внутримембранном пространстве.

Реакция хроматина лейкоцитов периферической крови и перитонеальных нейтрофилов мыши на воздействие электромагнитного излучения крайне высоких частот на фоне воспалительного процесса

Романова Нина Анатольевна

(Пуцинский государственный университет, Россия, Пуцзино, romanova_11@mail.ru)

Имеющиеся экспериментальные данные свидетельствуют о том, что электромагнитное излучение крайне высоких частот (ЭМИ КВЧ) способно влиять на состояние хроматина клеток, изменять структуру и функции хромосом, клеточную устойчивость к стандартным мутагенам и повреждающим воздействиям. Учитывая возможность влияния ЭМИ КВЧ на структуру хроматина клеток, есть основания полагать, что механизмы противовоспалительных эффектов излучения могут быть связаны со структурными изменениями хроматина эффекторных клеток воспаления. Цель работы заключалась в исследовании реакции хроматина лейкоцитов периферической крови и перитонеальных вызванных нейтрофилов мыши на воздействие низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ на фоне воспалительного процесса. Мышей облучали ЭМИ КВЧ (42.2 ГГц, 100 мкВт/см², 20 мин) через 1 ч после индукции воспаления. Анализ повреждений ДНК в клетках проводили с помощью метода "комета-тест" по процентному содержанию ДНК в "хвосте комет" (%ТДНК).

При индукции воспалительного процесса зимозаном наблюдался значительный рост уровня %ТДНК в лейкоцитах крови и перитонеальных вызванных нейтрофилах, а усиление фрагментации хроматина на изображениях "комет" свидетельствовало о наличии апоптотических изменений. Облучение животных низкоинтенсивным ЭМИ КВЧ снижало уровень повреждений ДНК в лейкоцитах крови мышей в среднем на 23.4±7.7% ($p < 0.05$) по сравнению с уровнем у необлученных животных при оценке через 1.5, 2, 3 и 4 ч после индукции воспаления. У облученных животных уровень повреждений ДНК в перитонеальных нейтрофилах оказался ниже на 42.7±13.8% ($p < 0.05$) по сравнению с контролем. Полученные результаты позволяют предположить, что под действием ЭМИ КВЧ происходит снижение уровня окислительных повреждений ДНК в клетках за счет

уменьшения образования свободных радикалов и/или повышения активности антиоксидантных систем. Это, в свою очередь, свидетельствует о снижении активности клеток воспаления и интенсивности воспалительной реакции под действием излучения.

Влияние коллоидных растворов серебра на эритроциты

Сарычева Ася Сергеевна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет Наук о Материалах, Россия, Москва, assergevna@gmail.com)

Одним из актуальных направлений современной науки является создание частиц, используемых в биомедицинских исследованиях для усиления сигнала комбинационного рассеяния света, регистрируемого от объектов: клеток, белков, мембран. На кафедре биофизики биологического факультета разработан подход, позволяющий получать сигнал гигантского комбинационного рассеяния (ГКР) от интактных эритроцитов с помощью коллоидных частиц серебра. Усиление сигнала комбинационного рассеяния коллоидными частицами вследствие плазмонного резонанса происходит в том случае, когда расстояние между молекулой, комбинационно рассеивающей свет, и поверхностью частиц составляет не более 10-20 нм. Это позволяет исследовать свойства примембранного гемоглобина, который, очевидно, является важным звеном в процессе переноса транспорта кислорода. В то же время известно, что коллоидные частицы благородных металлов ввиду своей реакционной способности могут оказывать деструктивное воздействие на живые клетки.

В связи с этим, целью данной работы является определение влияния коллоидных растворов серебра на эритроциты.

В ходе проделанной работы освоен метод получения растворов коллоидного серебра, вызывающего усиление комбинационного рассеяния. Определён размер частиц и положение максимума плазмонного резонанса. Найдена зависимость между размером коллоидных частиц, положением плазмонного резонанса, коэффициентами усиления и процентом гемолиза клеток эритроцитов. Обнаружено, что частицы с большим радиусом вызывают больший гемолиз и обладают меньшим коэффициентом усиления, по-видимому, непригодны для исследования гемоглобина в интактных эритроцитах. Также получены микрофотографии интактных эритроцитов методом лазерно-интерференционной микроскопии и показано, что коллоидные частицы не вызывают достоверных изменений площади и средней высоты эритроцита. Разработана методика приготвления образцов эритроцитов с коллоидными растворами серебра для измерения методом атомно-силовой микроскопии. Показано, что частицы коллоидного серебра адсорбируются на поверхности эритроцита.

Исследование кислородного статуса экспериментальной опухоли с помощью метода оптической диффузионной спектроскопии в ходе проведения лучевой терапии

Смирнова Татьяна Васильевна, Пряникова Т.И.

*(Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского
Россия, Нижний Новгород, smirnova_t.23@mail.ru)*

Существует корреляция между низким парциальным давлением кислорода в клетках опухоли и низкой чувствительностью к действию лучевой терапии. Оценка кислородного статуса опухоли позволяет подобрать условия для оптимизации лучевых методов лечения. Современный неинвазивный метод диагностики - оптическая диффузионная спектроскопия (ОДС) позволяет определить уровень оксигенации новообразований по содержанию окисленного и восстановленного гемоглобина. Целью настоящей работы была оценка возможностей метода ОДС для исследования изменений кислородного статуса экспериментальной опухоли при проведении лучевой терапии.

Эксперимент проводили на белых нелинейных крысах с перевитой экспериментальной опухолью лимфосаркомой Плисса (ЛСП). ОДС-исследование начинали на 4-й день после перевивки опухоли. Животных подвергали облучению дозой 30 Гр на 7-й день после перевивки. В качестве контроля использовали необлученных животных. Проводили серию последовательных ОДС-исследований экспериментальной опухоли с интервалом 1-2 дня. В работе была использована экспериментальная ОДС-установка, разработанная в ИПФ РАН,

Нижний Новгород. Сканирование осуществлялось при синхронном пошаговом перемещении источника и детектора, расположенных с противоположных сторон от исследуемого объекта.

По мере роста ЛСП было зафиксировано постепенное снижение уровня оксигенации опухоли. После проведения лучевой терапии наблюдалось уменьшение размеров опухоли, на фоне чего было выявлено повышение уровня насыщения крови кислородом по сравнению с необлученными животными. Последнее происходило как за счет роста содержания окисленной формы гемоглобина, характеризующей поступление кислорода в ткани, так и за счет снижения концентрации восстановленной его формы, характеризующей потребление кислорода тканями. Результаты нашей работы, полученные с использованием нового оптического метода, хорошо согласуются с данными литературы, демонстрирующими повышение уровня оксигенации опухолей, которое сопровождается снижением расхода кислорода тканями и повышением перфузии под действием ионизирующего излучения.

Определение морфологических параметров цитоплазматической мембраны клеток крови больных сахарным диабетом методом атомно-силовой микроскопии

Снежкина Анастасия Владимировна, Садритдинова А.Ф.

(Ульяновский Государственный Университет, Экологический факультет, Россия, Ульяновск, leftiger@rambler.ru)

Современные исследования механизмов развития сахарного диабета подтверждают концепцию мембрано-патологических изменений клеток сосудистой системы организма, связанных с нарушением метаболизма глюкозы в периферических тканях. В связи с этим в настоящее время использование атомно-силовой микроскопии для визуализации с высоким разрешением и оценки локальных мембранологических показателей клеточной мембраны становится перспективным в медицинской диагностике различных патологий.

В качестве материала была использована кровь людей больных сахарным диабетом (инсулин-зависимых) и условно здоровых доноров. Забор крови проводили утром натощак. Суспензию эритроцитов наносили на стекло методом мазка и высушивали на воздухе. Лейкоциты крови выделяли с помощью градиентного раствора фиколл-верографина, адгезию лейкоцитов проводили на предметных стеклах. Для исследования поверхности клеток использовали сканирующий зондовый микроскоп Solver Bio.

В результате проведенного исследования был разработан способ приготвления эритроцитов и лейкоцитов к АСМ-исследованиям. Препараты эритроцитов и лейкоцитов, подготовленные для сканирования на АСМ, дают адекватную картину распределения клеток. На изображении видны четкие границы клеток, и они свободно располагаются на предметном стекле. С такими клетками легко работать: проводить измерения, вести подсчёт, делать визуальный и морфологический анализ, а так же снимать с них параметры.

Предварительные данные изучения с помощью АСМ клеточной поверхности и локального модуля упругости мембраны эритроцитов и лейкоцитов крови людей, больных сахарным диабетом позволили выявить большую вариабельность морфологических особенностей и вязко-упругих свойств мембраны клеток, отражающие их структурно-функциональное состояние при нарушении транспорта глюкозы через клеточную мембрану. Исследование в этом направлении представляется перспективным, так как результаты могут стать основой для создания диагностических систем, выявляющих ранние признаки развития сахарного диабета, одного из самого распространенного на сегодняшний день заболевания.

Благодарим научного руководителя к.б.н., доцента Столбовскую О.В. за помощь в проведении эксперимента и его организации.

Взаимодействие нуклеиновых кислот с наночастицами золота, функционализированных рекомбинантным гистоном H1

Соловьева Валерия Владимировна

(Казанский (Приволжский) федеральный университет, кафедра генетики, Биолого-почвенный факультет, Казань, Россия, solovuyovavv@gmail.com)

Одним из способов получения биосовместимых материалов с заданными характеристиками является функционализация наночастиц с помощью присоединения

биомакромолекул. Цель нашей работы – получение наночастиц золота, поверхностно функционализированных рекомбинантным гистоном Н1.3, и исследование взаимодействия полученных наночастиц с различными молекулами нуклеиновых кислот. Способность гистонов обратимо связываться с ДНК и с помощью активного транспорта проникать в клеточное ядро можно использовать для разработки векторов для доставки наночастиц, нуклеиновых кислот и других макромолекул в эукариотические клетки.

Наночастицы золота (НЧЗ) синтезированы восстановлением золотохлористоводородной кислоты цитратом натрия при нагревании. Средний размер наночастиц составил 20 нм. На поверхности наночастиц адсорбированы анионы, определяющие отрицательный заряд НЧЗ, вследствие чего НЧЗ стабильны в водных растворах с низкой ионной силой. Устойчивость наночастиц можно повысить, покрыв их поверхность защитным слоем полимеров. В работе использовали рекомбинантный гистон Н1.3. Взаимодействие НЧЗ с гистоном Н1.3 исследовали с помощью анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments). Добавление гистона Н1.3 к коллоидному раствору НЧЗ приводило к увеличению размера наночастиц, увеличению максимума поглощения НЧЗ, и изменению электрокинетического потенциала с отрицательного на положительный. Функционализированные гистоном наночастицы золота (НЧЗ-Н1.3) стабильны в физиологическом растворе, фосфатно-солевом буфере и в среде для культивирования клеток DMEM, что делает их потенциально применимыми для биомедицинских приложений. Показано, что полученные НЧЗ-Н1.3 способны связывать различные молекулы нуклеиновых кислот: плазмидную суперскрученную двухцепочечную ДНК и синтетические двухцепочечные олигонуклеотиды коротких интерферирующих РНК. При этом наблюдалось увеличение размеров комплексов НЧЗ-Н1.3 с нуклеиновыми кислотами. В дальнейшем будет исследована способность НЧЗ-Н1.3 проникать в клетки человека и животных, внутриклеточная локализация комплексов и применимость НЧЗ-Н1.3 в качестве вектора для невирусного переноса рекомбинантных нуклеиновых кислот в эукариотические клетки для диагностики и терапии различных заболеваний человека.

Применение компьютерного моделирования для уточнения данных атомно-силовой микроскопии

Толстова Анна Павловна¹, Сушко А.Д.¹, Оферкин И.В.¹, Годзи М.Г.²

(¹ Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Физический факультет, ²ИП, Россия, Москва)

Одна из актуальных задач современной биофизики – изучение конформационных особенностей адсорбированных белковых структур в условиях *in vitro*. Существующие экспериментальные методы не в состоянии разрешить структуру адсорбированного биополимера с требуемой точностью. На сегодняшний день атомно-силовая микроскопия (АСМ) представляется наиболее перспективным для улучшения методом с точки зрения разрешения адсорбированных конформаций белков. Для уточнения данных АСМ было предложено использовать данные компьютерного моделирования.

В качестве объектов эксперимента были выбраны белки лизоцим и фибриноген. Для начала были получены четкие изображения мономеров лизоцима в АСМ на слюде в дистиллированной воде, при нейтральном pH. Затем методами молекулярной динамики была построена модель адсорбции молекулы лизоцима на поверхность оксида кремния (моделировал слюду) в программе NAMD и силовом поле CHARMM. По результатам моделирования была построена модель АСМ-изображения белка. Компьютерное и реальное АСМ-изображения сравнились. Далее был проведен эксперимент с белком фибриногеном: были получены четкие изображения фибриногена, адсорбированного на поверхности слюды и слюды, обработанной HMDS (гексаметилдисилазан); были построены модели адсорбции белка на эти подложки в воде, вакууме, и в процессе высыхания.

В результате сравнения АСМ-изображений мономера лизоцима и компьютерной модели лизоцима было показано существенное расхождение исследуемых объектов по высоте и приемлемое по горизонтальным размерам. Было решено дополнительно проверить параметры моделирования на другом объекте: фибриногене. Особенность используемых подложек в том, что на слюде фибриноген находится в компактной форме, концевые домены

в виде глобул. На HMDS фибриноген теряет третичную структуру, разворачиваясь и взаимодействуя с поверхностью подложки максимальной площадью. В моделях было получено расхождение конечных конформаций концевых доменов в зависимости от подложки. Тем не менее, существенной деградации третичной структуры белка замечено не было, что говорит о медленной скорости этого процесса.

Изучение влияния радиоактивного загрязнения на мутационный процесс и содержание наночастиц магнетита в семенах растения *Zygophyllum fabago*.

Фридулбеков Измаил Юзифович, Джафарова С. А

(Бакинский Государственный Университет, Азербайджан, Баку, f.ismayil@mail.ru)

Одной из проблем, связанных с охраной окружающей среды, является проблема ее радиоактивного загрязнения вследствие применения технологий, способствующих повышению естественного фона радиации. Так, в поселке Раманы Апшеронского полуострова на территории йодового завода обнаружены участки с высоким фоном (200 мкр/час), превышающим естественный фон радиации в 10-40 раз (10 мкр/час). В связи с указанной целью настоящего исследования было изучение влияния хронического облучения на семена растений вида *Zygophyllum fabago* с участков с высоким и низким фоном радиации.

Изучались всхожесть семян, динамика развития проростков и цитогенетические эффекты. Критерием цитогенетических эффектов служили выявляемые в анафазе и телофазе митоза aberrации хромосом в клетках меристемы корешков. Вторая часть исследований была посвящена обнаружению наночастиц магнетита методом ЭПР в семенах растений и их оболочках. Результаты проведенных исследований показали следующее. Всхожесть семян хронически облучаемых растений была достоверно ниже по сравнению с контрольными семенами и составила $87,5\% \pm 1,65$ и $96,3\% \pm 0,94$ соответственно. Динамика прорастания контрольных семян была равномерной, тогда как для облученных семян был характерен замедленный и неравномерный рост. Средняя длина корешков из семян контрольных растений была равна в 1,9 раза выше, чем корешков из семян хронически облучаемых растений ($4,3 \pm 0,16$ см и $2,19 \pm 0,13$ см соответственно). Цитогенетический анализ aberrаций хромосом в проростках облученных семян показал значительное превышение их уровня по сравнению с контрольными. Применение метода ЭПР во второй части исследований позволило обнаружить наночастицы магнетита в оболочке семян и в самих семенах по характерному для них широкому сигналу ЭПР ($g = 2,25$, $\Delta H = 32$ МТл).

Сравнение интенсивности широкого сигнала ЭПР в оболочке семян и самих семенах, взятых с контрольных растений, выросших на загрязненных участках, показало его снижение. Это указывает на уменьшение содержания наночастиц магнетита в растениях, произрастающих на радиационно-загрязненных участках.

Магнитизация клеток *Chlorella* для создания биосенсоров

Шарипова Ильзия Равильевна, Замалева А.И.

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Россия Казань, biosensor@bk.ru

В последнее время уделяется особое внимание исследованиям, направленным на объединение свойств живых клеток с уникальными свойствами биосовместимых наноматериалов для решения некоторых задач биотехнологии, биоэлектроники, экологии.

Целью данной работы являлась модификация клеточной поверхности водоросли *Chlorella pyrenoidosa* магнитными наночастицами для создания клеточных электрохимических биосенсоров.

В ходе работы были использованы одноклеточные зеленые водоросли *Chlorella pyrenoidosa*, которые часто используются в качестве чувствительного элемента биосенсоров. Клеточную поверхность *C. pyrenoidosa* модифицировали магнитными наночастицами, которые были предварительно стабилизированы в процессе синтеза полиэлектролитом полиаллилзамин гидрохлорида. Модифицированные клетки водорослей в дальнейшем были охарактеризованы различными методами микроскопии. При использовании просвечивающей электронной микроскопии было показано равномерное распределение

иммобилизованных магнитных наночастиц на поверхности исследуемых клеток и их отсутствие в цитоплазме. При применении метода, который основан на автофлуоресценции водорослей, было установлено, что модифицированные клетки водорослей сохраняют свои физиологические функции.

В процессе создания биосенсора был использован новый подход к иммобилизации клеток на электрод: магнитно-модифицированные клетки *C. pyrenoidosa* наносились и удерживались на поверхности электрода при помощи магнита. Для детекции сигнала электрохимического сенсора использовали пробу на окисление-восстановление феррицианида при разных режимах освещенности для исследования фотосинтетической активности клеток водорослей. В опытах с триазиновыми гербицидами было продемонстрировано, что разрабатываемый биосенсор обладает хорошей воспроизводимостью и чувствительностью. Можно полагать, что такие биосенсоры могут быть применены для определения токсичных соединений в различных водоемах и сточных водах.

Intramolecular tautomerization and stability of *Thy*, *Ura* and its halogen derivatives
Brovarets Olga Olexandrivna, Hovorun D M.

(Taras Shevchenko National University, Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, brovarets@list.ru, dhovorun@imb.org.ua)

5-bromouracil and its analogues 5-chlorouracil and 5-fluorouracil are derivatives of uracil and classical mutagens, which mutagenic effect on DNA has been studied in detail for decades using molecular biological and genetic methods [2, 3].

Investigation of the mutagenic properties of these 5-halogenuracils is interesting and important due to the several reasons one of which is that noncanonical tautomeric or enol forms of Ura and its halogen derivatives were supposed to be very unstable, and their role in physiological DNA structures was assumed for years to be negligible. However, despite the fact that the presence of rare forms is only negligible, an increasing amount of data supports the importance of noncanonical tautomers in the mutations arising and stabilization of certain nucleic acid structures [2, 3].

In this paper using quantum-chemical methods of investigation on the MP2/6-311++G(2df,pd)//B3LYP/6-311++G(d,p) level of theory the influence of the halogen derivatives of Ura on DNA replication and incorporation errors has been studied for the first time.

For the first time it has been established that the substitution of hydrogen atom at the C5 position of Ura for the halogen (Br, F, Cl) has practically no effect on the main physico-chemical characteristics of intramolecular tautomerization. At the same time, the energy of Ura tautomerization increases for 3.08 kcal/mol in comparison with corresponding value for Thy under standard conditions. Mutagenic action of the Ura halogen derivatives is not directly associated with their tautomerization.

The lifetime of the mutagenic tautomers of halogenuracils exceeds typical time of DNA replication in the cell ($\sim 10^3$ s) by 3–10 orders. This fact confirms that the postulate on which the Watson-Crick tautomeric hypothesis of spontaneous transitions grounds, is adequate. The absence of intramolecular H-bonds in the canonical and mutagenic tautomeric forms determine their high stability.

ПОДСЕКЦИЯ «БИОХИМИЯ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Роль нокаута гена *pttg* - 1 в развитии аутоиммунных процессов у мышей

Афанасьев Сергей Валериевич

(Львовский национальный университет им. Ивана Франко, Украина, Львов, serhiy-aspirant@rambler.ru)

Секурин (pituitary tumor transforming gene 1, PTTG) является регулятором расхождения хроматид в анафазе митоза, участвует в процессах репарации ДНК, апоптозе и регуляции дифференциальной экспрессии генов. У мышей с нокаутом гена *pttg-1* (PTTG-KO) наблюдается гиперплазия тимуса, гипоплазия селезенки и яичек.

В данной работе было решено определить влияние отсутствия гена *pttg* на синтез моноспецифических антител и исследовать их аффинность, а также провести исследование возможного влияния отсутствия гена *pttg-1* на возникновение аутоиммунных процессов.

Нами было показано, что нокаут гена *pttg-1* приводит к нарушению регуляции продукции антител в ответ на введение антигена. Мышей иммунизировали суспензией эритроцитов человека. Забор крови для выявления антиэритроцитарных антител проводили на 14 и 21 день после иммунизации. Определение уровня антител проводили методом иммуноферментного анализа. У мышей дикого типа (PTTG-WT) наблюдался пик роста количества антиэритроцитарных антител на 14 день и уменьшение количества антител на 21 день. У PTTG-KO мышей рост уровня антиэритроцитарных антител наблюдался как на 14, так и на 21 день. Исследование аффинности антиэритроцитарных антител показало, что антитела, полученные из иммунизированных PTTG-KO мышей, имеют более низкую аффинность по сравнению с антителами, полученными из крови мышей дикого типа.

У PTTG-KO мышей был обнаружен высокий уровень аутоантител к двухцепочечной ДНК, тогда как уровень антител, специфических к одноцепочечной ДНК, оставался без изменений. Исследование аффинности антител к нативной ДНК показало, что рост уровня анти-ДНК аутоантител в PTTG-KO мышей, вероятно, вызван ростом уровня антител с низкой аффинностью в то время, как титр антител с высокой аффинностью оставался без изменений как в PTTG-KO, так и у мышей дикого типа. Следовательно, нокаут гена *pttg-1* приводит к нарушению регуляции продукции антител в ответ на стимуляцию антигеном. Наличие высокого уровня аутоантител к двухцепочечной ДНК свидетельствует о развитии аутоиммунных процессов у PTTG-KO мышей.

Получение и изучение защитного пептида ежовника *Echinochloa crus-galli*

Беркут Антонина Анатольевна, Опарин П. Б., Василевский А. А.

(Московский физико-технический институт и институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Россия, Москва, AntoninaBerkut@gmail.com)

В последнее время в медицине и сельском хозяйстве сложилась острая ситуация, связанная с развитием у патогенных бактерий и грибов устойчивости к соединениям, используемых для подавления их роста. Вследствие этого, возникает потребность в препаратах нового поколения: для аграрной промышленности необходимо создание эффективных фунгицидов, для медицины – антибиотиков. Кандидатами для разработки новых пестицидов и антибиотиков являются защитные пептиды растений, в частности, представители группы т.н. «четырёхцистеиновых» (4Cys) пептидов. Отличительными особенностями этих соединений служат: наличие в их составе двух консервативных мотивов Cys-X₂-Cys, где X – любой аминокислотный остаток, а также характерная пространственная укладка, представленная двумя α-спиралями, стабилизированными двумя дисульфидными мостиками.

Объектом представленной работы является пептид Ec-AMP-1 из ежовника *Echinochloa crus-galli*. Он принадлежит к группе 4Cys пептидов и обладает антифунгальной активностью. Целью работы было получение рекомбинантного пептида Ec-AMP-1 для

проведения структурно-функциональных исследований. В ходе работы была синтезирована кДНК целевого пептида, которая затем была введена в состав бактериального экспрессионного вектора. Полученная конструкция была использована для трансформации клеток *Escherichia coli*. Далее проводилась контролируемая экспрессия гена целевого продукта. После лизиса клеток полученный лизат подвергали аффинной хроматографии, в результате чего был очищен химерный белок, состоящий из Es-AMP-1, линкерного участка и белка-помощника тиоредоксина. Целевой пептид был получен после гидролиза гибридного белка и разделения продуктов методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии. Выход пептида составил 11 мг с 1 л бактериальной культуры. Затем было проведено тестирование антифунгальной активности рекомбинантного пептида, которое показало, что Es-AMP-1 в микромолярных концентрациях обладает способностью подавлять рост ряда фитопатогенных грибов.

Выделение и изучение некоторых свойств “химер”, состоящих из малых белков теплового шока человека и флуоресцентных белков

Дацкевич Петр Николаевич, Мырников Е.В.

(Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, datsbio@gmail.com)

Малые белки теплового шока человека (sHSP) – представители распространенного семейства белков, участвующих в поддержании гомеостаза в нормальных и стрессовых условиях. Они вовлечены в регуляцию разнообразных процессов в клетке, например, апоптоза, пролиферации, сворачивания и деградации белков, препятствуют агрегации денатурированных белков. Мутации этих белков зачастую коррелируют с развитием онкологических и нейродегенеративных заболеваний человека.

Использование “химер”, состоящих из исследуемого и флуоресцентного белка (FP), позволяет анализировать внутриклеточную локализацию и функционирование белков в живой клетке. Однако такой популярный подход возможен только в случае, если FP не влияет на свойства исследуемого белка.

Целью данной работы была разработка метода получения и изучение некоторых свойств “химер”, состоящих из малых белков теплового шока человека HSPB1, HSPB5, HSPB6 и HSPB8 и цианового или желтого флуоресцентных белков. Рекомбинантные химерные белки экспрессировали в клетках *E.coli* штамма BL21. В ходе работы подобраны составы сред, температура и время культивирования, обеспечивающие высокие уровни экспрессии “химер”. Разработан метод выделения, состоящий из фракционирования сульфатом аммония, ионообменной хроматографии и гель-фильтрации, позволяющий получать гомогенные препараты химерных белков с выходом, достигающим 40-60 мг из 1 л среды культивирования. Получены очищенные препараты 8 химерных белков.

Методом гель-фильтрации исследовано олигомерное состояние полученных белков. Установлено, что “химеры” FP-HSPB1 и FP-HSPB5 образуют олигомеры меньшего размера, чем немодифицированные HSPB1 и HSPB5. В то же время размеры олигомерных комплексов, формируемых “химерами” FP-HSPB6 и FP-HSPB8 не отличаются от размеров олигомерных комплексов, образуемых белками дикого типа. Таким образом, включение флуоресцентного белка в состав “химер” может оказывать существенное влияние на свойства sHSP. В этой связи требуются дополнительные исследования для установления приемлемости указанных “химер” для изучения sHSP в живой клетке.

Авторы благодарны Н.Н. Случанко и А.А. Шеметову за получение молекулярно-биологических конструкций. Работа выполнена при поддержке фонда РФФИ (10-04-00026)

Изучение апоптоз-индуцирующей активности моноклональных антител к опухолевому ганглиозиду GD2

Доронин Игорь Игоревич

(Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Российская федерация, Москва, doroninii@gmail.com)

Исследования последних лет показали, что некоторые ганглиозиды,

гиперэкспрессируемые определенными видами опухолей, включая нейробластомы, глиомы, меланомы, мелкоклеточные опухоли легких, являются удобными мишенями для разработки иммунотерапевтических подходов лечения данных заболеваний. Однако в данных исследованиях собственная функциональная роль ганглиозидов практически не изучена. Представленная работа направлена на изучение молекулярных механизмов апоптоза и его роли в противоопухолевой активности моноклональных антител к опухолеспецифичному ганглиозиду GD2.

На данном этапе работы были наработаны моноклональные антитела ME361 к ганглиозиду GD2 из культуральной среды гибридомы HB9326. Показано, что выделенные антитела представляют собой высокоочищенную фракцию иммуноглобулинов, обладающих высокой специфичностью к ганглиозиду GD2, что было проверено при помощи биохимических методов, а также методов проточной цитофлуориметрии и конфокальной микроскопии.

В качестве клеточной модели исследования эффектов моноклональных антител ME361 выбрана мышиная Т-клеточная лимфома EL-4, которая экспрессирует высокий уровень ганглиозидов GD2. Проведен анализ апоптоз-индуцирующей активности данных антител, а также определено участие белков, значимых для проведения апоптоза с использованием ингибиторного анализа и метода ПЦР.

В результате нашей работы показано, что GD2-специфические антитела вызывают дозозависимую супрессию пролиферации клеток лимфомы EL-4. Клеточная гибель, вызываемая GD2-специфическими антителами, проходит по механизму апоптоза. Процесс апоптоза, запускаемый GD2-специфическими антителами, протекает по классическому рецептор-опосредованному механизму, в который включены инициаторные и исполняющие каспазы. Использование Fab и F(ab')₂ фрагментов показало, что бивалентность антител не играет существенной роли в процессе запуска апоптоза, так как Fab фрагменты антител обладают высокой апоптоз-индуцирующей активностью. Исходя из данных конфокальной микроскопии и проточной цитофлуориметрии, можно заключить, что запуск процесса апоптоза опосредован изменениями, происходящими в липидных доменах плазматических мембран клеток.

Работа выполнена при поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг., государственный контракт №П1065.

Сравнительная характеристика основных биохимических свойств нормальной (M₁-) и опухолевой (Tu-) пируваткиназы

Исачкин Олег Викторович

(Белорусский государственный университет, Биологический факультет, Республика Беларусь, Минск, fep_888@tut.by)

Пируваткиназа (ПК, АТФ: пируват-фосфотрансфераза, КФ 2.7.1.40) – важнейший гликолитический фермент, участвующий в реакции субстратного фосфорилирования АДФ. В организме человека фермент представлен 4 изоформами, различающимися по особенностям регуляции биокатализа, ферментативной активности и локализации в тканях. Выделяют L-ПК печени, M₁-изоформу мозга и скелетной мускулатуры, а также R-ПК, обнаруженную в эритроцитах. При злокачественной трансформации клеток вышеперечисленные изоформы ПК димеризуются и превращаются в опухолевый изофермент (Tu-ПК), молекулярно-биохимические особенности функционирования которого в настоящее время окончательно не установлены.

В связи с этим, настоящая работа посвящена сравнительной характеристике особенностей ферментативного катализа нормальной (M₁-) и опухолевой (Tu-) изоформ пируваткиназы (ПК).

Исследование M₁-ПК проводилось в цитозольной фракции скелетной мускулатуры крыс, Tu-ПК – в гомогенатах клеток линии Kasumi -1 (острый миелоидный лейкоз человека). Активность фермента измерялась в сопряженной с лактатдегидрогеназой ферментной системе. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ

Stadia 6.0.

В ходе работы установлены следующие различия параметров биокатализа изоферментов ПК: оптимум pH для M₁-ПК соответствует величине 7,5; для Tu-ПК – 9,0. Определены константы Михаэлиса для M₁- и Tu-форм ПК по фосфоенолпирувату, составившие 2,0·10⁻⁵ моль/л и 1,8·10⁻⁶ моль/л, соответственно, и по АДФ – 2,5·10⁻⁴ моль/л и 5,3·10⁻⁶ моль/л для M₁- и Tu-ПК, соответственно. Максимально эффективная концентрация природного ингибитора ПК – фенилаланина – составляет 1 ммоль/л для M₁-ПК и 0,5 ммоль/л для опухолевого фермента. Оптимальное для проявления ингибиторного эффекта значение pH соответствует величинам ≥7,5 (M₁-ПК) и ≥9,0 (Tu-ПК). Константы полунингибирования (IC₅₀) для данного ингибитора составили 1,6 ммоль/л (M₁-ПК) и 0,8 ммоль/л (Tu-ПК). Установлена способность 5 ммоль/л аланина предотвращать ингибиторное действие фенилаланина для обоих исследованных изоферментов.

Таким образом, в ходе проведенной работы установлены различия нормальной и опухолевой изоформ ПК по величине оптимума pH катализируемой реакции, величине K_m для обоих субстратов (АДФ и фосфоенолпирувата), условиям реализации аллостерического эффекта фенилаланина.

Автор глубоко благодарен научному руководителю - к. б. н., доценту О.И. Губич и аспиранту БГУ Д. Посреднику за всестороннюю помощь в проведении работы.

Регуляция связи митохондрий с виментином при участии малой ГТФазы Rac1

Камынина Алиса Игоревна

(Институт белка РАН, Россия, Москва, alisa_kamynina@hotmail.com)

Для правильного функционирования митохондрий необходимо их определенное распределение в клетке, которое достигается в результате их взаимодействия с цитоскелетными структурами: микротрубочками, актиновыми микрофиламентами и промежуточными филаментами. В нашей лаборатории было показано, что виментиновые промежуточные филаменты регулируют не только распределение и подвижность митохондрий, но также их потенциал и чувствительность к окислительному стрессу. За взаимодействие с митохондриями отвечает N-концевой участок молекулы виментина, расположенный между аминокислотными остатками 44 – 69.

Этот участок содержит несколько остатков Ser, которые могут фосфорилироваться под действием различных протеинкиназ и тем самым регулировать связь виментиновых филаментов с митохондриями. Известно, что протеинкиназа PAK-1 (один из эффекторов малой ГТФазы Rac1) способна фосфорилировать виментин по Ser56. С другой стороны, ранее в нашей лаборатории было показано, что малая ГТФаза RhoA регулирует подвижность митохондрий, и ее активация приводит к уменьшению подвижности митохондрий.

В данной работе нами были проведены опыты для выяснения возможной роли малой ГТФазы Rac1 в регуляции связи виментиновых филаментов с митохондриями и изменении подвижности митохондрий. Используя конститутивно-активный мутант белка Rac1, мы убедились в том, что этот белок увеличивает подвижность митохондрий. Далее мы обнаружили, что эффект Rac1 на митохондрии обусловлен действием ее эффектора PAK-1. Так, Rac1 не влияет на подвижность митохондрий в присутствии доминантно негативного мутанта PAK-1, или если виментин содержит мутацию S56A.

Таким образом, малая ГТФаза Rac1 регулирует связь виментиновых промежуточных филаментов с митохондриями через свой эффектор протеинкиназу PAK-1, которая фосфорилирует виментин по Ser56.

Активность NADPH-цитохром P-450-редуктазы в микросомальной фракции карциномы Герена крыс-опухоленосителей

Кеца Оксана Виталиевна, Немич В.В

(Черновицкий национальный университет им. Ю.Федьковича, Украина, Черновцы, ksen808@mail.ru)

В функционировании цитохром P-450-зависимой микросомальной редокс-цепи большое значение имеет флавопротеид – NADPH-цитохром P-450-редуктаза, изменение активности

которого может привести к изменениям каталитической активности цитохрома P-450. Изучение функционирования компонентов биотрансформации лекарств опухолевой ткани на разных этапах онкогенеза открывает перспективы для выяснения механизмов резистентности опухоли к лекарственным препаратам.

Цель работы – исследовать активность NADPH-цитохром P-450-редуктазы в микросомальной фракции карциномы Герена крыс на разных стадиях развития.

Исследования показали, что в период интенсивного роста карциномы Герена в микросомальной фракции активность NADPH-цитохром P-450-редуктазы снижается в 2,7 раза в сравнении с исследуемыми показателями, характерными в латентный период роста карциномы. Уменьшение активности NADPH-цитохром P-450-редуктазы снижает вероятность переноса электронов на цитохром P-450, вследствие чего снижается роль последнего в метаболизме лекарственных препаратов в опухолевой ткани. С другой стороны, снижение ферментативной активности NADPH-цитохром P-450-редуктазы и цитохрома P-450 в опухолевой ткани может иметь протективное значение, поскольку их функционирование может не только инактивировать токсичные метаболиты, а наоборот, трансформировать их в соединения более опасные, чем исходные.

На терминальном этапе роста карциномы Герена наблюдается повышение активности NADPH-цитохром P-450-редуктазы. Известно, что данный энзим владеет способностью самостоятельно катализировать некоторые оксигеназные и редуктазные реакции, принимать участие в реакциях перекисного окисления липидов (ПОЛ), поэтому повышение NADPH-цитохром P-450-редуктазной активности в опухолевой ткани может быть связано с участием данного фермента в интенсификации процессов ПОЛ, которые наблюдаются в ткани карциномы Герена в этот период онкогенеза.

Таким образом, в период интенсивного роста в организме карциномы Герена в микросомальной фракции наблюдается снижение активности NADPH-цитохром P-450-редуктазы. Активация фермента на терминальной стадии онкогенеза может быть обусловлена участие энзима в свободнорадикальных процессах клетки.

Изучение взаимодействия кардиотонических стероидов с Na,K-АТРазой

Климанова Елизавета Андреевна

(Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва, lehorsla@yandex.ru)

За последние годы появилось множество работ, свидетельствующих о том, что помимо основной функции Na,K-АТРазы, связанной с поддержанием неравновесного распределения ионов Na⁺ и K⁺, данный фермент выступает в роли рецептора кардиотонических стероидов и за счет этого способен участвовать в регуляции пролиферации и смерти клеток. Разными группами исследователей были получены многочисленные данные о способности кардиотонических стероидов, помимо ингибирования Na,K-АТРазы, активировать сигнальные каскады клетки, включая рецепторы инозитол-3-фосфата, высвобождение внутриклеточного Ca²⁺ и активных форм кислорода, Src-киназу, эпидермальный фактор роста (EGFR), протеинкиназу Ras, фосфоинозитол-3-киназу (PI3K) и митоген-активируемую протеинкиназу (МАРК) Erk 1/2. В связи с этим изучение взаимодействия кардиотонических стероидов с Na,K-АТРазой представляет интересную проблему.

Основываясь на данных о различии физиологических эффектов при взаимодействии разных кардиотонических стероидов (уабаина и маринобуфагенина) с Na,K-насосом, мы предполагаем существование разницы в параметрах подобных взаимодействий. В данной работе мы использовали почки кролика, из которых был получен очищенный препарат Na,K-АТРазы. Изучение взаимодействия полученного белка с КТС осуществляли посредством измерения флуоресценции ФИТЦ-меченных препаратов фермента, а также методом изотермической калориметрии титрования.

Изучение параметров взаимодействия уабаина с Na,K-АТРазой с помощью измерения изменений флуоресценции ФИТЦ-меченного белка и методом изотермической калориметрии титрования показало схожие результаты. Константа связывания примерно равна $1 \cdot 10^5$, а стехиометрия связывания, которую удалось установить с помощью

калориметрии титрования, составила 0,3. Мы планируем изучить также параметры взаимодействия Na,K-АТФазы с маринобуфагенином, стероидом другой природы. Это позволит шире посмотреть на проблему ингибирования фермента кардиотоническими стероидами с последующей активацией сигнальных каскадов клетки, а также установить связь между параметрами взаимодействия КТС с Na,K-АТФазой и физиологическими эффектами.

Изменения внутриклеточного pH в гепатоцитах миноги (*Lampetra fluviatilis L.*) в период метаболической депрессии

Коновалова Светлана Александровна

(Институт эволюционной физиологии и биохимии им. Сеченова РАН, Россия, Санкт-Петербург, svetakonvalova@gmail.com)

Гепатоциты миноги в последнюю зиму жизненного цикла, когда выключено экзогенное питание, представляют собой уникальную естественную модель для изучения процессов обратной метаболической депрессии. Осенью, в самом начале миграции, гепатоциты метаболически активны, однако в результате длительного голодания развивается ярко выраженная метаболическая депрессия, которая весной, непосредственно перед нерестом, сменяется кратковременной активацией метаболизма.

Концентрация адениновых нуклеотидов была определена методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, митохондриальный мембранный потенциал – на проточном цитометре и конфокальном микроскопе с помощью потенциал-зависимых флуоресцентных красителей (TMRM, DiOC₆, JC-1 и MTG), а внутриклеточный pH – флуоресцентным красителем SNARF-1 AM.

Обнаружено, что в период с сентября по декабрь концентрация АТФ в кусочках печени миноги снижается с 0,8 до 0,2 нмоль/мг влажной массы, а энергетический заряд Аткинсона падает до критически низких значений – 0,2-0,3. Митохондриальный мембранный потенциал также снижается к зиме, достигая минимума в январе. Однако весной, начиная с марта, концентрация АТФ, заряд Аткинсона и митохондриальный потенциал возрастают, приближаясь к осенним значениям. При этом выявлены значительные сезонные изменения внутриклеточного pH гепатоцитов миноги. Зимой, величина внутриклеточного pH (pH_i) на 0,3 единицы меньше, чем pH среды инкубации (pH_e): pH_i = 6,2 при pH_e = 6,5 и pH_i = 7,3 при pH_e = 7,6. Закисления внутриклеточной среды в осенний и весенний периоды не происходит.

Таким образом, сезонные изменения pH_i в гепатоцитах миноги хорошо коррелируют с энергетическим статусом клеток – зимой, когда концентрация АТФ, энергетический заряд Аткинсона и митохондриальный мембранный потенциал минимальны, наблюдается закисление внутриклеточного пространства в гепатоцитах по сравнению с периодами метаболической активности (весна, осень). Известно, что при метаболической депрессии снижение pH является одним из наиболее эффективных способов защиты клетки от некроза.

Гистон H1/ОБМ гидролизующие IgG как потенциальные маркеры в диагностике тяжести протекания системной красной волчанки

Корний Наталья Сергеевна

(Львовский национальный университет им. И.Я. Франко, Украина, Львов, aliakorniy@mail.ru)

Антитела, обладающие способностью катализировать химические реакции, получили название каталитически активных антител, или абзимов. Наличие абзимов в сыворотке крови больных служит важным диагностическим показателем тяжести протекания различных аутоиммунных заболеваний. Нами впервые было установлено, что в сыворотке крови больных системной красной волчанкой (СКВ) присутствуют протеолитически активные IgG-антитела (протабзимы), обладающие способностью расщеплять гистон H1 и основной белок миелина (ОБМ). Абзимы с подобной каталитической активностью не были обнаружены в сыворотке крови клинически здоровых людей.

В данной работе было решено установить взаимосвязь между протеолитической активностью IgG-антител сыворотки крови больных СКВ относительно гистона H1 и ОБМ и

особенностями протекания этой болезни.

Было обследовано 38 больных на СКВ возрастом 13-71 года, из которых 34 (89,5%) – женщины. Диагноз СКВ был подтвержден клиническими и лабораторными данными, согласно критериям АСК (1997). IgG выделяли из сыворотки крови хроматографией на протенин G-сефарозе. Субстратами протеолитической реакции служили коммерческие препараты ОБМ и гистона Н1. Протеолитическую активность антител определяли электрофорезом в 12% ПААГ в присутствии 0,1% SDS.

Установлено, что 15 из 38 препаратов IgG (39,5%) у обследованных пациентов, больных СКВ, с разной эффективностью гидролизуют гистон Н1 и ОБМ. При этом, 14 из 15 больных СКВ с обнаруженными в сыворотке крови протабзимами находились на стадии обострения болезни (93,3%).

Таким образом, протеолитическая активность IgG-антител сыворотки крови больных СКВ относительно гидролиза гистона Н1 и основного белка миелина коррелирует с обострением болезни и может служить важным маркером тяжести протекания этого заболевания.

Выделение и структурно-функциональная характеристика нового трёхпетельного токсина из яда кобры *Naja kaouthia*

Мещерякова Анна Владимировна

(Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Россия, Москва, iozefkneht@yandex.ru)

Структурно-функциональная характеристика нейрорецепторов является важной задачей в связи с вовлеченностью этих рецепторов в патогенез нервных и психических заболеваний. Так называемые трёхпетельные токсины змей за счет селективности действия являются незаменимыми инструментами в исследовании нейрорецепторов.

В нашей лаборатории путем поэтапной жидкостной хроматографии был выделен новый трёхпетельный токсин из яда кобры *Naja kaouthia* (Lesson, 1831).

Сухой яд кобры разделяли на гель-фильтрационной колонке, после чего фракция v3 была обессолена и затем нанесена на катионообменную колонку, на которой исследуемый токсин в силу своей кислой природы не сорбировался. Последующее разделение включало в себя этапы обессоливания, анионообменной и обратнофазовой хроматографии.

Согласно данным масс-спектрометрии, масса выделенного токсина (a21.1) составляет 6845 Да. Его первичная структура имеет высокую степень гомологии (89-91% идентичных аминокислотных остатков) с последовательностями трёхпетельных токсинов (ТПТ) группы XX (по классификации Fгу, 2003), так называемых «орфанотоксинов», мишень действия которых на сегодняшний момент не определена.

В экспериментах по конкуренции с альфа-бунгаротоксином за связывание с ацетилхолинсвязывающим белком (АХСБ) моллюска, который является водорастворимым аналогом внеклеточной области n-АХР и других т.н. цис-петельных рецепторов, a21.1 увеличивал связывание радиоактивно-меченного альфа-бунгаротоксина с АХСБ.

В то же время, в экспериментах по определению острой токсичности для мышей, при измерении цитотоксичности на линиях клеток РС12 (феохромцитом надпочечников крысы) и НТ1080 (карцинома легких человека), а также при взаимодействии с тремя подтипами n-АХР ($\alpha 7$, $\alpha 4\beta 2$ и мышечного подтипов) a21.1 не проявил активности в концентрациях до 10 мкМ.

Таким образом, белок из группы орфанотоксинов способен к взаимодействию с белком, обладающим структурой, подобной внеклеточной области цис-петельных рецепторов. При этом он нетоксичен и не связывается с классическими мишенями альфа-нейротоксинов яда змей. Возможно, он действует на другой тип цис-петельных рецепторов, который теперь необходимо установить.

Влияние вальпроата натрия на активность неприлизина и холинэстераз в плазме крови взрослых крыс, подвергнутых пренатальной гипоксии

Морозова Антонина Юрьевна, Багрова Д.И.

(Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова РАН, Россия, Санкт-Петербург, ator2703@gmail.com)

Известно, что гипоксия в эмбриональный период приводит к нарушению функционирования центральной нервной системы и снижению когнитивных функций. При этом наблюдается изменение активности как холинэстераз, так и неприлизина - фермента деградации амилоидного пептида в мозге и периферических тканях организма. Недавно обнаружено, что введение вальпроата натрия приводит к восстановлению когнитивных функций у крыс, перенесших гипоксию в период эмбрионального развития. Целью данной работы являлось определение влияния вальпроата натрия на активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ), бутирилхолинэстеразы (БуХЭ) и неприлизина (НЕП) в плазме крови взрослых крыс, перенесших пренатальную нормобарическую гипоксию на 14 день (E14). Активность ферментов определяли в плазме крови шестимесячных крыс с эмбриональной патологией (E14), которым в течение двух недель внутрибрюшинно вводили вальпроат натрия. Оказалось, что у животных, перенесших пренатальную гипоксию, активность НЕП уменьшается в 1,2 раза по сравнению с контрольными животными (3,49±0,46 усл.ед/мкг белка). После введения вальпроата натрия активность НЕП увеличивается в 1,3 раза (3,69±0,40 усл.ед/мкг белка), что соответствует активности фермента у контрольной группы животных. У животных, перенесших пренатальную гипоксию, активность АХЭ уменьшается в 2,2 раза, а БуХЭ в 2,4 раза по сравнению с контрольными животными (2,5±0,17 пмоль АТХ/мин/мг; 0,4±0,03 пмоль БуТХ/мин/мг). После введения вальпроата натрия активность АХЭ увеличивается в 2,6 раза (2,9±0,20 пмоль АТХ/мин/мг), БуХЭ - в 10,2 раза (1,7±0,2 пмоль БуТХ/мин/мг), что сопоставимо с показателями активности у контрольной группы животных. Таким образом, введение вальпроата натрия приводит к повышению активности НЕП, АХЭ и БуХЭ в плазме крови крыс, перенесших пренатальную гипоксию, до показателей активности данных ферментов у контрольной группы животных.

Работа поддержана грантом РФФИ (№10-04-01156).

Изучение опиоидного рецептора бэта-эндорфина мембран коры головного мозга крысы

Некрасова Юлия Николаевна, Садовников В.Б., Наволоцкая Е.В.

(Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Россия, Пуцино, nekr-jul@mail.ru)

Известно, что эндогенный нейропептид β-эндорфин взаимодействует с опиоидными (μ и δ) и неопиоидными, нечувствительными к опиоидному антагонисту налоксону, рецепторами. До настоящего времени структура и функции последних остаются малоизученными.

Нами был синтезирован пептид TPLVTLFK (авторское название – октарфин), соответствующий последовательности 12-19 молекулы β-эндорфина. Для изучения связывания октарфина с мембранами коры головного мозга крысы мы использовали меченный тритием октарфин (уд. акт. 28 Ки/моль).

Показано, что [³H]октарфин связывается с мембранами коры головного мозга крысы с высоким сродством (K_d=2.6±0.2 нМ). Специфическое связывание [³H]октарфина ингибирует β-эндорфин (K_i 2.4±0.2 нМ), селективный агонист неопиоидного рецептора β-эндорфина синтетический пептид иммуноर्फин (SLTCLVKGFY) (K_i 2.9±0.2 нМ) и немеченый октарфин (K_i 2.7±0.2 нМ). Немеченые синтетические аналоги октарфина проявляют низкую ингибирующую способность. Налоксон, α-эндорфин, γ-эндорфин, [Met⁵]энкефалин и [Leu⁵]энкефалин не обладают способностью вытеснять [³H]октарфин из лиганд-рецепторного комплекса (K_i > 10 μМ). Наряду с этим определено, что немеченый октарфин полностью ингибирует специфическое связывание [³H]иммуноर्फина с мембранами коры головного мозга крысы (K_i 2.8 ±0.2 нМ).

Таким образом, β -эндорфин, иммунорфин и октарфин связываются с общим рецептором на поверхности мембран коры головного мозга крысы. Данный тип рецептора нечувствителен к налоксону и не связывает опиоидные агонисты, следовательно, он имеет неопиоидную природу.

Протеомные исследования ядов змей на примере степной гадюки (*Vipera ursinii renardi*, Bonaparte, 1835)

Никитин Илья Георгиевич

(Институт биоорганической химии РАН им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Российская Федерация, Москва, gluecklich-gans@yandex.ru)

Протеомика представляет собой активно развивающуюся область химии белков, основной задачей которой является изучение совокупности белков и их модификаций, их декомпозиции и взаимодействия друг с другом - т.е. изучение протеома. Частным случаем протеомики является веномика – область токсинологии, изучающая совокупность белковых компонентов животных ядов, их взаимодействие друг с другом и с белками тела жертвы. Особенно актуальным является протеомное изучение животных ядов, ранее никогда не подвергавшихся биохимическому исследованию. К таковым относится яд степной гадюки (*Vipera ursinii renardi*), исследование максимального количества белковых компонентов которого и стало предметом данного исследования.

В работе использовались различные виды хроматографии, а также неотъемлемые инструменты любого протеомного исследования – электрофорез в полиакриламидном геле и масс-спектрометрия. Многообразие используемых методов объясняется необходимостью физического выделения белка из яда для его полноценной структурно-функциональной характеристики.

В результате исследования был обнаружен и охарактеризован ряд новых белковых веществ: 1) выделен инсектотоксический компонент – многосубъединичный сложно устроенный белок, проявляющий токсическое действие на насекомых; 2) выделено две протеазы, прерывающие внешний путь свёртывания и превращение фибриногена в фибрин путём разрушения α -субъединицы фибриногена; 3) выделен ряд фосфолипаз A2, из которых две проявили коагулопатические свойства; 4) обнаружен блокатор никотинового холинэргического рецептора прудовика (*Lymnaea stagnalis*, Lamarck, 1801); 5) выделен новый ингибитор сериновых протеаз типа Кунитца.

Таким образом, можно заявить, что яд степной гадюки содержит много новых белков, некоторые из которых не найдены даже у близкородственных видов и представляет собой интересный объект для протеомного исследования. Дальнейшая работа будет посвящена более подробной характеристике обнаруженных белков и нахождению новых.

Влияние кверцетина® и липофлавона® на активность глутатионтрансферазы в условиях экспериментального геморрагического инсульта

Торгалo Елизавета Александровна, Гайда Л.Н., Остапченко Л.И

(Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Украина, Киев, ОНЦ
"Институт биологии", alisa210@meta.ua)

Важной составляющей глутатионовой антиоксидантной системы является глутатионтрансфераза (ГТ) - ключевой фермент в механизмах защиты клеток от воздействия экзогенных и эндогенных свободных радикалов. Для профилактики и лечения посленезультных осложнений применяют антиоксиданты кверцетин и липофлавон.

Целью нашего исследования было изучить влияние кверцетина и липофлавона на активность (ГТ) в тканях мозга, селезенки и почек при экспериментальном геморрагическом инсульте (ГИ). В опыте использовали белых крыс массой 180±10г, которых содержали на стандартном рационе вивария. Геморрагический инсульт у крыс вызывали путем введения во внутреннюю капсулу головного мозга аутогенной крови. Кверцетин вводили перорально, а липофлавон внутривенно (10 мг/кг) в течение 7 суток. Активность фермента выражали в мкмоль последнего на 1 г белка в минуту.

При экспериментальной модели геморрагического инсульта активность (ГТ) в исследуемых органах снижалась. Снижение активности фермента может указывать на инициацию процессов липопероксидации и накопление продуктов ПОЛ, которые, в свою очередь, могут быть причиной дальнейшего развития патологии. В исследованных органах в условиях развития ГИ происходит активация процессов декомпенсации антирадикальной защиты. В этих условиях снижается активность (ГТ), что может быть одной из причин нарушения пролиферации клеток.

Полученные результаты показали, что в условиях (ГИ) происходит интенсификация процессов ПОЛ, о чем свидетельствует установленное нами повышение содержания их продуктов и снижение активности антиоксидантных ферментов. Введение кверцетина и липофлавона приводит к нормализации состояния системы ПОЛ, а именно, к снижению содержания продуктов ПОЛ и активации ферментов антиоксидантной защиты.

Выявление молекулярной природы Na^+/Li^+ обменника: сравнительный анализ мембранных белков эритроцитов крысы и кролика методом двумерного электрофореза
Трушина Юлия Александровна

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, yulijatrishina@gmail.com)

Na^+/Li^+ обменник (Na^+/Li^+ exchanger, NLE) впервые был обнаружен при изучении стимулирующего влияния внеклеточного Na^+ на скорость выхода Li^+ из эритроцитов человека. В дальнейших исследованиях было установлено, что этот переносчик активирован у больных гипертонической болезнью и диабетической нефропатией. В предыдущих экспериментах нами было показано, что скорость NLE в эритроцитах крыс в 25 и в 1000 раз ниже, чем в эритроцитах человека и кролика соответственно. Но несмотря на общебиологическую и медицинскую значимость, молекулярная природа данного обменника до сих пор остается неизвестной.

Основываясь на столь большой разнице NLE в эритроцитах крысы и кролика, мы предполагаем увидеть различия в содержании интегральных мембранных белков, осуществляющих NLE и/или регулирующих активность этого переносчика, с помощью двумерного электрофореза и последующего масс-спектрометрического анализа. В работе использовались фракции мембранных белков эритроцитов крысы и кролика. Для этого кровь крысы линии Wistar и кролика последовательно центрифугировали и промывали для получения чистой фракции эритроцитов, которую затем лизировали с последующим многократным отмыванием от гемоглобина. Белковый состав полученных «теней» эритроцитов анализировали с помощью одномерного и двумерного электрофорезов.

Разделение мембранных белков эритроцитов крысы и кролика методом одномерного электрофореза в денатурирующих условиях по методу Леммли показало наличие 4-х основных белков с кажущимися молекулярными массами 240, 220, 100 и 75 кДа. Сопоставление с данными литературы первые три белковые полосы соответствуют \square , \square спектринам и анионному обменнику (белок полосы 3). Дальнейший анализ белкового состава методом двумерного электрофорезом с последующей идентификацией масс-спектрометрии позволит провести детальное сравнение белковых наборов и установить молекулярную природу NLE.

Автор благодарен к.б.н. Акимовой Ольге Алексеевне и д.б.н. Орлову Сергею Николаевичу. Работа поддержана грантом РФФИ (№09-04-00646-а).

Поиск цитопротекторных соединений в ряду синтетических аналогов простагландинов группы В
Шевчук Екатерина Сергеевна

(Белорусский государственный университет, Биологический факультет, Республика Беларусь, Минск, prostanoids@tut.by)

Простагландины (ПГ) – мультифункциональные молекулярные регуляторы различных физиологических функций. Наличие у ПГ защитных эффектов, наблюдающихся как на уровне цельной печени, так и в условиях повреждения гепатоцитов *in vitro*, позволяет

рассматривать данные соединения в качестве потенциальных хемотерапевтических средств. Однако присущая природным ПГ лабильность и отсутствие селективности ограничивают возможность их практического использования. Поэтому создание стабильных и высокоактивных синтетических аналогов ПГ часто является удачной альтернативой использованию их природных прототипов.

Настоящая работа посвящена сравнительной характеристике цитопротекторных свойств простаноидов группы В на клеточной модели повреждения печени хлороформом. Исследование выполнено с использованием природного ПГ₂ и 9 синтетических аналогов ПГВ, синтезированных и предоставленных для исследований Лабораторией химии протагландинов Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Работа проводилась на первичной суспензии гепатоцитов крыс. Простаноиды в концентрациях (10^{-10} – 10^{-6} моль/л) добавляли к опытным пробам через 30 минут после 0,14% хлороформа. Цитопротекторные свойства изучаемых соединений оценивали по их способности предотвращать утечку лактатдегидрогеназы из цитозоля, кислой фосфатазы – из лизосом и глутаматдегидрогеназы – из митохондрий гепатоцитов. Статистическая обработка результатов выполнялась с помощью пакета программ Stadia 6.0.

Установлено, что обработка клеток ПГ₂ и исследованными простаноидами вызывает развитие достоверного дозозависимого защитного эффекта. Максимально эффективными оказались концентрации, равные $1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л. По силе протекторного действия исследованные соединения образуют следующий ряд эффективности: Л6К (-99,0% к контролю) = Л1К (-98,5%) \geq Л7М (-97%) > М3Г (-89%) = М2Ц (-89%) > ПГ₂ (-57%) \geq М1Ц (-55,8%) > М8К (-36%) > М3Ц (-24,1%) > Л6М (-19,9%).

Максимальный защитный эффект наблюдался в присутствии соединений, обладающих 2-тиенил-пропиловым фрагментом (Л6К, Л7М), метоксикарбонильной группой (Л1К) или бензольным кольцом (М2Ц, М3Г) в α -цепи. Действие этих соединений превосходило эффект ПГ₂ – наиболее мощного и широко используемого в современной клинической и экспериментальной практике цитопротектора простаноидного типа.

Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю – к.б.н., доценту Губич О.И. Работа выполнена в рамках гранта ГПНИ Республики Беларусь “Фундаментальная и прикладная медицина и фармацевция” (№ задания 4.36).

ПОДСЕКЦИЯ «БОТАНИКА. ВЫСШИЕ РАСТЕНИЯ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Сравнительная эмбриология природных таксонов геснериевых и их гибридов

Голубева Ирина Вадимовна

(Московский Государственный Университет им. М. В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, igolubeva@igt.ru)

Семейство *Gesneriaceae* достаточно слабо исследовано в эмбриологическом плане. Те данные, которые есть, – отрывочны и неполны, они ограничены изучением представителей нескольких родов (Arekal 1961, Bauer 1970., Adatia et al. 1971, McDonald, S.C. 1952). Имеющиеся к настоящему моменту данные не позволяют адекватно оценить ни размах эмбриологической изменчивости семейства в целом, ни эмбриологическую специфику его таксономических подразделений. Задача данной работы - восполнить пробелы и провести систематическое изучение природных таксонов геснериевых, определить их особенности и различия.

Проведенное исследование эмбриологии представителей 4 ранее не исследованных родов и представителей родов *Aeschynanthus*, *Streptocarpus* показало, что данное семейство в целом весьма гомогенно по признакам мужской репродуктивной сферы, хотя и проявляет небольшие различия по числу ядер клеток секреторного папетума не совпадающие с имеющимися версиями таксономического разделения семейства.

Новые виды листостебельных мхов для Челябинской области

Ибатуллин Александр Анатольевич

(Уральский государственный педагогический университет, Россия, Екатеринбург, My_orchis@mail.ru)

Флора мохообразных Челябинской области изучена крайне слабо и неравномерно. Предпринятые нами летом и осенью 2010 г. и зимой 2011 экспедиции по территории Саткинского, Катав-Ивановского и Нязепетровского районов Челябинской области позволили выявить 21 вид, ранее не указанный для территории области, и 3 новых вида для Южного Урала в целом. Ранее не указанные для области: *Anomodon attenuatus* (Hedw.) Hueb.; *Atrichum flavisetum* Mitt.; *Bryhnia scabrata* (Lindb.) Kaur.; *Bryum lonchocaulon* Müll.Hal.; *Cratoneuron filicinum* (Hedw.) Spruce; *Dichodontium pellucidum* (Hedw.) Schimp.; *Distichium inclinatum* (Hedw.) Bruch et al.; *Ditrichum flexicaule* (Schwaegr.) Hampe; *Grimmia teretinervis* Limpr.; *Homalia trichomanoides* (Hedw.) B. S. G.; *Neckera complanata* (Hedw.) Huebener; *Palustriella commutata* (Hedw.) Ochyra; *Plagiomnium rostratum* (Schrad.) T.J.Kop.; *Pohlia elongata* Hedw.; *Pohlia melanodon* (Brid.) Shaw; *Pohlia wahlenbergii* (F.Weber & D.Mohr) A.L.Andrews; *Pseudoleskeella catenulata* (Brid. ex Schrad.) Kindb.; *Rhizomnium punctatum* (Hedw.) T. Kop.; *Rhodobryum ontariense* (Kindb.) Kindb.; *Schistidium papillosum* Culm.; *Timmia megalopolitana* Hedw. Ранее не указанные для Южного Урала: *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) T.J.Kop.; *Schistostega pennata* (Hedw.) F.Weber & D.Mohr; *Pseudoleskeella rupestris* (Berggr.) Hedenaes et Soederstroem. Латинские названия видов даны согласно "Список мхов Восточной Европы и Северной Азии" (Ignatov et al., 2006). Мхи собирали, главным образом, в окрестностях следующих пещер: Эссюмская, Серпиевский пещерный комплекс (Колокольная, Майская, Водяная), Путаная, Данко и Змейка, где обследовали лесные массивы, расположенные на высокой террасе, а так же прирусловые террасы по обоим берегам реки Сим.

Данные по изучению территории трех района расширяют представление о распространении ряда видов мхов и свидетельствуют о необходимости дальнейшего брيوفлористического изучения территории Челябинской области.

Автор выражает благодарность д.б.н. А.П. Дьяченко за проверку определения и определение ряда видов, а так же В.А. Кустенко, А.В. Кузнецову, А.Е. Зинкевичу, за огромную помощь в организации полевых исследований на территории вышеуказанного района Челябинской области. Сборы хранятся в гербарии URP.

Ковыли украинский и Залесского: морфологическое и хорологическое сравнение
Котылов-Гуськов Юрий Олегович

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, yurez-kg@yandex.ru)

Ковыли (*Stipa L.*) играют определяющую роль в формировании облика степных сообществ. На юге Европейской России этот род представлен в основном перисто-остистыми ковылями секции *Stipa*. Система перисто-остистых ковылей южных областей бывшего СССР подвергалась неоднократному пересмотру на протяжении всего XX века. Целью настоящей работы являлось изучение изменчивости ковыля украинского (*S. ucrainica P. Smirn.*) и ковыля Залесского (*S. zaleskii Wilensky*) — видами из сложной группы родства *S. dasyphylla* — для поиска надежных диагностических признаков. Для этого в Ростовской обл. в 2009 и 2010 гг. собран репрезентативный материал из 12 популяций в зоне симпатрии изучаемых видов. Каждый гербарный образец изучен по пяти морфологическим признакам. Многомерный статистический анализ этих признаков позволяет говорить о достоверных различиях между видами. Дискриминантный анализ показал, что наиболее важным диагностическим признаком является характер опушения влагалищ листьев вегетативных побегов, наличие длинных волосков по краям влагалища и на язычке у *S. zaleskii*. Длина полоски волосков на нижней цветковой чешуе существенно варьирует, на что указывает Н.Н. Цвелёв. Наши данные это подтверждают. У 13 из 71 растения обнаружено промежуточное значение этого признака. Более того, у 4 образцов разные диаспоры формально чётко принадлежат к разным видам. Таким образом, диагностическое значение этого признака, как принято во многих «Флорах», преувеличено. Ареалы этих видов ковыля различаются. *S. ucrainica* более западный понтийский вид, а *S. zaleskii* — степной восточно-европейско-западно-сибирский (MW, МНА). При этом ареалы перекрываются на значительном протяжении: от восточных областей Украины до севера Волгоградской области. Признак опушения влагалищ *S. zaleskii* проявляется только пределах этой зоны. У образцов, собранных восточнее, волоски по краям влагалища короткие и почти не отличаются от волосков остального влагалища. Выявленный нами признак позволяет облегчить различение *S. zaleskii* от *S. ucrainica* в зоне перекрывания ареалов, т.е. там, где это необходимо в первую очередь.

Особенности формирования гинецея у *Coccyganthe flos - cuculi (L.) Fourg.*

Котельникова Нина Сергеевна

(Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, факультет Биологии, Россия, Санкт-Петербург, nina.kotelnikova87@gmail.com)

Гинецей *Coccyganthe flos-cuculi (L.) Fourg. (Caryophyllaceae)* состоит из 5 плодолостиков, которые оканчивается на верхушке 5 стилодиями. Нами изучен морфогенез гинецея на следующих стадиях: 1) формирование плацент, 2) заложение семязачатков (примордии семязачатков с мегаспороцитами перед мейозом), 3) формирование семязачатков (мейоз и начало развития зародышевого мешка), 4) сформированные семязачатки (зрелый зародышевый мешок), 5) гинецей после опыления. Гинецей характеризуется структурной зональностью на каждой из стадий. Соотношение зон изменяется в ходе морфогенеза. Во время первой и второй стадий гинецей в нижней и средней частях завязи (примерно $\frac{2}{3}$) является синкарпным. Верхняя часть завязи представлена паракарпной зоной (примерно $\frac{1}{3}$). Обе зоны имеют неодинаковое строение, что делает возможным их описание как с позиции теории кондупликатного, так и пельтатного плодолостика. Семязачатки формируются на центрально-угловых плацентах. Стерильные плаценты синкарпной зоны образованы центральной синплацентой (колумелла) и нижней частью индивидуальных угловых плацент. В фертильной части синкарпной зоны выделяются синасцидиатная (доминирует) и короткая гемисинасцидиатная области. Паракарпная зона также демонстрирует различную организацию: фертильная симпликатная (преобладает) и стерильная гемисимпликатная области. В дистальной части гинецей представлен 5 стилодиями (апокарпная зона). Клетки стенки завязи в области сuture начинают увеличиваться в размерах (в 2-3 раза) и в них

обнаруживаются друзы с кристаллами, вероятно, оксалата кальция. В ходе дальнейшего развития друзы появляются в клетках паренхимы септ, кроме плацент. К третьей (критической) стадии выявляется ряд особенностей в морфогенезе гинецея: в фертильной области синкарпной зоны изменяется форма гнезд завязи, происходит приподнимание септ и разрастание угловых плацент в её стерильной области вблизи колумеллы. В результате этого нижние семязачатки оказываются в латеральном положении; в симпликатной области паракарпной зоны наряду с расхождением вентральных краев плодололистиков отмечается провисание септ. В конце этой стадии в базипетальном направлении клетки с друзами начинают разрушаться с образованием полостей в паренхиме септ. Эпидермальные слои септ сближаются и в дальнейшем дегенерируют. Все эти процессы приводят к формированию лизикарпного гинецея, за исключением короткой синкарпной зоны в основании завязи.

Автор выражает благодарность научному руководителю И.И. Шамрову за помощь в проведении исследования и в подготовке тезисов.

Цветение растений рода остролодочник *Oxytropis* DC. в условиях интродукции Круглова Анна Евгеньевна

(Учреждение Российской академии наук Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Россия, Уфа, aneta20062006@mail.ru)

Эндемичные и реликтовые виды рода остролодочник *Oxytropis* DC. (семейство бобовые, *Fabaceae* Lindl.) относятся к группе редких и находящихся под угрозой исчезновения, занесенных в «Красные книги» многих регионов России, в том числе Республики Башкортостан. Один из эффективных приемов сохранения, размножения и увеличения численности таких растений – интродукция в питомники ботанических садов с последующей реинтродукцией в естественные местообитания для восстановления природных популяций. Однако хорошо известно, что зачастую у интродуцированных растений нарушаются элементы репродуктивной биологии, в частности цветение (Левина Р.Е., 1981). Цель данного исследования состояла в изучении цветения растений рода остролодочник (о. сходный, о. Гмелина, о. уральский), интродуцированных в питомнике редких растений Института биологии Уфимского НЦ РАН (г. Уфа). Установлено, что цветение в целом протекает сходно у изученных видов, поэтому подробнее приведем результаты, полученные на примере о. сходного – *O. ambigua* (Pall.) DC. Растения были интродуцированы в 1999 г. семенами, собранными на хребте Устуубик (Учалинский р-н Республики Башкортостан). Приведем данные наблюдений в течение вегетационного сезона 2010 г. за растениями 2-го года жизни, вступившими в генеративный период развития. Согласно фенологическим наблюдениям, вегетация начиналась в 3-й декаде апреля. Начало бутонизации наблюдалось в 1-й декаде мая, массовая бутонизация – во 2-й декаде мая. Начало цветения приходилось на 2-3 декады мая. Цветение заканчивалось во 2-й декаде июня. Фенологические фазы бутонизации и цветения перекрывали друг друга. У растений формировалось 1-10 соцветий (укороченная кисть), в соцветии 8-34 цветков типичного для бобовых строения. Порядок цветения акропетальный. Цветение происходило неравномерно. Так, на одном и том же растении в течение первой половины июня имелись бутоны, цветки и даже зеленые плоды. По характеру суточного ритма распускания цветков исследуемый вид относится к группе дневных растений. Цветки раскрывались однократно и на ночь не закрывались. Распускание цветков начиналось рано утром (около 8 час) и заканчивалось вечером (около 21 час). В ясные солнечные дни массовое распускание цветков происходило в 11-16 час на фоне повышения температуры воздуха (20-30⁰C) и падения относительной влажности воздуха (50-60 %). О. сходный, о. Гмелина и о. уральский – строго энтомофильные растения: при изоляции соцветий плоды и семена не завязывались. Основные опылители – шмели, «работавшие» все светлое время суток при максимальной активности в 11-18 час, что совпадало с пиками цветения (11-13 час и 15-17 час). В целом, в условиях интродукционного питомника изученные виды остролодочника активно цветут и плодоносят, что свидетельствует об их хорошей интродукционной способности.

Исследование поддержано программой «Ведущие научные школы РФ» (грант № НШ 7637.2010.4. *Лидер Школы – член-корр. РАН Т.Б. Батыгина, БИН РАН*).

Цветение и плодоношение сортов *Zizyphus jujuba* в условиях интродукции Семеновина Виктория Алексеевна

*(Волгоградский государственный педагогический университет, Россия, Волгоград,
Sem89@mail.ru)*

Zizyphus jujuba Mill. (унаби) - листопадное растение, до 5 м высотой, является хозяйственно ценной и перспективной культурой из семейства крушиновых для интродукции в условия деградированных ландшафтов засушливого региона. Отличается скороплодностью и высокой урожайностью. Плоды имеют различную форму, по своей питательности приближаются к финикам. Объектом исследований являлась коллекция сортов унаби в условиях светло-каштановых почв Волгоградской области. В задачу исследований входило изучение влияния новых условий на цветение и плодоношение крупноплодных (Та-ян-цзао, Южанин), среднеплодных (Дружба, Финик), мелкоплодных (Сочинский, Темрюкский) сортов. Исследования проводились по общепринятым методикам сортоизучения. В условиях светло-каштановых почв заложение цветочных почек происходит в год цветения, в период роста годичных побегов в длину, обычно в июне-июле. В условиях сухой степи при хорошем световом и тепловом режимах закладывалось большое количество генеративных почек, что имело влияние на дальнейшую плодую и семенную продуктивность. Цветение всех сортов приурочено к периоду со среднесуточной температурой воздуха 22-24°C. Продолжительность цветения – от 15 до 20 дней. Цветки мелкие (0,3-0,4 см), обоеполые, зеленовато-белого цвета, душистые, с нежным ароматом. Опыление цветков проходит благополучно при относительной влажности воздуха 35-45%. Плодоношение унаби в Нижнем Поволжье наблюдалось при сумме активных температур (выше 10 С) от 2200 до 2500° С в период от цветения до созревания плодов. Унаби формируют урожай как на плодоносящих побегах, размещенных на старых многолетних побегах, так и на приростах текущего года. Основная часть урожая у всех сортов созревает на 2-3 недели раньше, чем плоды позднестебелового прироста.

Диагностика некоторых видов рода *Euphorbia* L.) по признакам листовых серий

Соловьев Сергей Викторович

*(Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск,
Solovyev87@mail.ru)*

Одна из наиболее сложных в таксономическом отношении групп рода *Euphorbia* L. – секция *Esula* Dumort. – представители которой составляют большинство видов молочаев, распространенных на территории Урала и лесостепного Зауралья. Исследованию некоторых видов этой секции и посвящена данная работа. Широкие пределы варьирования, а также слабая изученность индивидуальной и внутривидовой изменчивости диагностических признаков затрудняют диагностику видов молочаев. Решение данных вопросов невозможно без проведения детальных исследований качественных и количественных показателей. В диагностике молочаев используются многие признаки, среди которых особое внимание уделяется морфологии листьев. В связи со значительной изменчивостью морфологических признаков листьев наиболее эффективным, на наш взгляд, может стать сравнительно-морфологический анализ полноценного листового ряда (серии), состоящего из листьев низовой, срединной и верховой формаций, а также листьев соцветия (брактеей). Это позволит не только сравнивать листья синхронно по формациям друг с другом, но и выявлять различия в так называемых траекториях листовых рядов, которые отражают как видоспецифические черты, так и черты, обусловленные гидротермическим режимом сезонного развития растений. В результате исследования, полученные траектории изменения длины и ширины листьев, построенные для некоторых видов рода *Euphorbia*, показали, что систематически далекие виды характеризуются заметными различиями, а близкие виды имеют сходные траектории, но и они обладают уникальными отличиями.

Например, у двух близкородственных видов – *E. uralensis* и *E. virgata* отличия заключаются в том, что у *E. uralensis* в большинстве случаев имеет неполный листовый ряд, т.е. у образцов в фазе плодоношения отсутствуют или имеются в небольшом количестве листья срединной формации. У некоторых образцов *E. uralensis* брактен осей соцветия третьего порядка значительно меньше листьев низовой формации. У *E. virgata* верхние брактен осей соцветия третьего порядка по размеру близки к листьям низовой формации, но всегда крупнее. Эти два близкородственных вида различаются числом листовых рубцов: *E. virgata* обычно имеет менее 15, *E. uralensis* – 20–35 (реже 40–50) листовых рубцов. Анализ листовых серий видов рода *Euphorbia* позволил установить специфические закономерности, которые не могут быть выявлены другим способом анализа или при простом визуальном рассмотрении образцов. Эти закономерности более точно определяют морфологические (и отчасти экологические) различия близких видов и позволяют дать им правильную оценку, в том числе с точки зрения их филогении. Исследование выполнено при финансовой поддержке интеграционного проекта №77 Сибирского отделения Российской академии наук.

Интродукция видов *Rosa* L. в условиях сухой степи

Соломенцева Александра Сергеевна

(ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт агролесомелиорации
Россельхозакадемии, Россия, Волгоград, alexis2425@mail.ru)

В качестве кустарников многоцелевого назначения (декоративных, лесомелиоративных, лекарственных и т.д.) значительный практический и теоретический интерес представляет виды рода шиповник (*Rosa* L.) семейства *Rosaceae* Juss. Объектами исследований являлись интродуцированные шиповники, произрастающие в коллекциях ГОНО «Волгоградское» ВНИАЛМИ РАСХН: *R. rugosa* Thunb. – шиповник морщинистый, *R. cinnamomea* L. – шиповник коричный, *R. beggeriana* Shrenk. L. – шиповник Беггера, *R. acicularis* Lindl. – шиповник иглистый, *R. ecae* Aitch. – шиповник Эки, *R. pomifera* Herrm. – шиповник яблочный, *R. canina* L. – шиповник собачий. В условиях сухой степи выявлено, что большая часть годового прироста вегетативных побегов у них приходится на самый благоприятный для их роста месяц (май), когда в почве находится достаточное количество влаги, а среднесуточная температура воздуха не превышает 18 °С. Обилие солнечного света, сухость воздуха влияют на интенсивность роста в высоту. Разнообразие экологических форм по росту обусловлено их происхождением из различных флористических областей, где формировался генотип каждого вида. По высоте изученные виды распределились на три группы: I – от 2 до 3 м; II – от 1 до 2 м; III – до 1 м. Интродуцированные виды шиповников в условиях светло-каштановых почв обильно цветут и плодоносят. Ранее цветение (конец апреля) в условиях Волгограда наблюдалось у шиповника Эки, естественный ареал которого горы Средней Азии. В первой декаде мая зацветают шиповники коричный и Беггера, к позднецветущим (конец мая, июнь) относятся иглистый, яблочный. Большинство шиповников в условиях Волгограда цветут 23-49 дней. Длительный период цветения зафиксирован у шиповника морщинистого. Он цветет с конца июня и до морозов, благодаря чему является прекрасным декоративным растением для озеленительных и почвозащитных посадок. Вегетационный период составляет 212 дней и несколько снижается (195) в засушливые годы. Шиповники в условиях интродукции проходят полный цикл сезонного развития, хорошо цветут, плодоносят и перспективны для введения в культуру засушливого региона.

Особенности роста и развития видов *Juniperus* L. и перспективы их использования в озеленении Волгоградской области

Ульянов Дмитрий Владимирович

(ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт агролесомелиорации
Россельхозакадемии, Россия, Волгоград, vnialmibio@mail.ru)

Можжевельники (*Juniperus* L.) в урбанизированных районах сухой степи являются наиболее неприхотливыми и устойчивыми хвойными растениями. Объектом исследований являлись можжевельники: казацкий (*J. sabina* L.), виргинский (*J.*

virginiana L.) и обыкновенный (*J. communis* L.), относящиеся к семейству кипарисовые (*Cupressaceae*), произрастающие на каштановых почвах Нижневолжской станции по селекции древесных пород ГНУ ВНИАЛМИ. Можжевельник казацкий – стелющийся кустарник, прекрасно выглядит в группах. Это засухоустойчивое и светолюбивое растение. Насаждения с участием *J. sabina* имеют высокий водоохранный, почвозащитный и санитарно-гигиенический эффект. Опыт интродукции *J. virginiana* (североамериканский вид) показывает, что он неплохо растет в жарком и сухом климате Волгоградской области, где достигает 6, а *J. communis* – 3,5 м. Несмотря на хороший рост и развитие *J. virginiana* до сих пор не получил широкого распространения в озеленительных насаждениях Волгоградской области. *J. virginiana* в условиях Волгоградской области начинает плодоносить с 6-7-летнего возраста и дает до 70% доброкачественных семян, показатель доброкачественности семян у *J. communis* – низкий (25-45%). Как показали исследования, при семенном размножении *J. virginiana* по сравнению с другими видами этого рода растет сравнительно быстро. Его сеянцы в первый год вегетации достигают 10-12 см, во второй год 20-25, четырехлетние растения имеют высоту 65-80 см, а 5-6-летние растения уже пригодны для посадки на постоянное место. Таким образом, *Juniperus virginiana* – одно из перспективных хвойных растений для озеленения в засушливых условиях, обладает разнообразием формы кроны и окраски хвои, хорошо переносит искусственную формовку кроны. Выносливость к засухе сочетается с высокой зимостойкостью. *J. virginiana* может расти на различных почвах, в том числе на слабо засоленных. Опыт применения *J. virginiana* в озеленительных посадках г. Камышина показал, что он хорошо растет, развивается и относительно устойчив в условиях запыленности и загазованности воздуха урбанизированных территорий, в групповых посадках выносит затенение.

Морфогенез побеговых систем *Corylus pontica* на светло-каштановых почвах

Хужахметова Алия Шамильевна

*(ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт агролесомелиорации
Россельхозакадемии, Россия, Волгоград, aliyaSham@mail.ru)*

В естественных насаждениях Нижнего Поволжья отсутствуют орехоплодные породы. Лещина понтийская (*Corylus pontica*) или фундук является наиболее ценным растением среди огромного разнообразия орехоплодных культур. Различия требований к условиям среды у сортов проявилось при изучении ростовых процессов. Все сорта фундука имеют короткий период роста и весной начинают рано вегетировать. При создании насаждений с участием сортового материала *Corylus pontica* проводилась послепосадочная обрезка саженцев на высоте 15-20 см от земли. В результате удаления верхушечной почки побег продолжения главной оси кустарника возобновился из боковой почки. Рост побега главной оси идет моноподиально. Интенсивное ветвление наблюдалось с 2-3-летнего возраста. До четырех летнего возраста главная ось четко выделяется из системы побегов, и отличается от слабее растущих наклоненных в стороны боковых ветвей вертикальным положением и толщиной. Последующее ослабление роста главной оси отмечено в 5-6-летнем возрасте. В этот период из спящих пазушных почек у ее основания возникают побеги боковых осей. Они образуют группу побегов высоких порядков, превосходящую главную ось по высоте и толщине. Быстрый рост боковых осей надземных частей из спящих почек приводит к тому, что к 6-летнему возрасту достигают высоты и толщины главной оси, а затем превосходят ее. С 6-7 возраста верхушка оси возобновления теряется среди ее быстрорастущих боковых ветвей. В будущем спящие почки боковых осей дают начало подобным же осям более высокого порядка – осям возобновления. В условиях освещения развиваются более мощные, а в затененных участках кроны – слабые побеговые системы. Ярусность кроны у лещины понтийской в условиях Волгоградской области практически не выражена. Таким образом, в сухостепных условиях при хорошей освещенности и дополнительном увлажнении более интенсивно происходят этапы формирования побеговых систем, и характерной особенностью их развития является сокращение длительности роста главной оси и более ранний переход от моноподиального к симподиальному типу ветвления побегов.

Морфологическая и структурная характеристика соцветий *Nonea rossica* Stev. (Boraginaceae)

Чернышова Светлана Анатольевна

(Казанский федеральный университет, Россия, Ульяновск, svecha_79@mail.ru)

Литературные сведения о структуре соцветий *Nonea rossica* Stev., как и большинства представителей *Boraginaceae*, неоднозначны. В одних источниках соцветия этого вида определяются как щитковидно-метельчатые, состоящие из завитков, в других - парциальное соцветие noneи называется кистью.

Материал для исследований (соцветия noneи русской разных стадий развития) собирался в 2008 – 2010 годах в местах естественного произрастания вида на территории г. Ульяновска и его окрестностей. При определении структуры парциального соцветия и флоральной единицы анализировались последовательность заложения цветков, а также взаимное расположение цветка и его прицветного листа.

Под терминальным цветком флоральной единицы в типичном случае возникают две ветви, каждая из которых, нарастая моноподиально, формирует многоцветковую фрондулозную открытую коническую кисть. Все цветки соцветия, за исключением терминального, развиваются в пазухах кроющих листьев. Сочетание признаков цимозной и ботрической групп – дихазий и кисть - позволяет отнести такое соцветие к сложным, смешанным соцветиям и определить его как дихазий кистей. Количество цветков, развивающихся на одной кисти, у исследованных особей *Nonea rossica* варьировало от 1 до 20 (в среднем $8,63 \pm 1,72$). Описанный выше вариант соцветия является для *Nonea rossica* типичным и исходным для других вариантов. Таковых было обнаружено семь. Их появление связано с тремя процессами: редукцией одной или двух кистей, срастанием осевых структур (метатопии), сменой типа нарастания ветвей дихазия с моноподиального на симподиальный, ведущей к увеличению количества кистей одного соцветия до 3 - 4х.

Соцветие растений noneи русской характеризуется довольно стабильной структурой, отклонения от которой довольно редки. Использование определения «метельчатое» при морфологическом описании соцветия *Nonea rossica* кажется весьма сомнительным, поскольку оно подразумевает сильное разветвление оси, чего у соцветий данного вида не наблюдается. От термина «завиток» также следует отказаться, несмотря на скрученность верхушки соцветия. При составлении физиономического описания соцветия noneи русской было бы корректнее использовать формулировку «полузонтик из кистей, на верхушке улиткообразно свёрнутых», вместо распространённого в справочной литературе определения «щитковидно-метельчатые, состоящие из завитков» и т.п.

Сравнительная карпология представителей трибы *Thouinieae* (Sapindaceae)

Яценко Игорь Олегович

(Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Россия, Москва,

i_o_yatzenko@mail.ru)

Плоды представителей семейства *Sapindaceae* разнообразны по морфологии, типам вскрывания, консистенции перикарпия и мерности завязи. Строение плодов крайне важно для систематики семейства, единственная существующая на данный момент система построена на основании морфологических признаков (Radlkofer 1933, 1934), тогда как анатомическое строение перикарпия до сих пор оставалось изученным лишь у представителей трибы *Paullinieae* (Weckerle et al., 2005). В связи с этим нами было предпринято исследование по определению морфогенетических типов плодов представителей *Thouinieae*. В ходе исследования было изучено 7 видов (*Allophylus camtostachys* Radlk., *A. cobbe* Blume, *Diatenopteryx sorbifolia* Radlk., *Guindilia trinervis* Gill. ex Hook., *Thouinia discolor* Griseb., *Th. paucidentata* Radlk., *Th. nervosa* Griseb.). Для представителей *Diatenopteryx* и *Thouinia* характерны фрагмокарпные плоды, распадающиеся на крылатые мерикарпии. Плоды *Thouinia* в норме тримерные, *Diatenopteryx* - димерные. Число слоев клеток перикарпия варьирует от 6 до 26. Экзокарпий представлен однослойной эпидермой. Наружная зона мезокарпия сложена паренхимными клетками. Внутренняя зона мезокарпия

представлена веретеновидными склереидами (2-11 слоев). Эндокарпий однослойный сложен клетками, имеющими сходное строение с клетками внутренней зоны мезокарпия. *Guindilia* также обладает тримерными фрагмокарпными плодами, мерикарпии имеют округлую вздутую форму. При созревании плода часто развиваются одна или две карпелли. План строения перикарпия сходен с описанным выше, общее число слоев клеток составляет от 19 до 21, два самых наружных слоя мезокарпия представлены гиподермой, а внутренняя зона мезокарпия представлена 4-5 слоями склерейд. Плоды *Allophylus* развиваются из тримерного гинецея, фертильной оказывается только одна карпелль, она имеет округлую форму, стерильные карпелли остаются в основании плода. Перикарпий подразделен на сочную мякоть и косточку. Количество слоев перикарпия варьирует от 27 до 42. Сочную часть мезокарпия образуют экзокарпий и наружные слои мезокарпия из паренхимных клеток. Косточка образована склереидами внутренней зоны мезокарпия (3-5 слоев) и многослойным эндокарпием (5-6 слоев у *A. cobbe* и 10-13 у *A. cantostachys*). Наши исследования показали, что плоды представителей *Thouiniae* обладают большим морфологическим разнообразием, однако, анатомия перикарпия имеет сходный план строения. Плоды, встречающиеся в данной трибе, следует относить к верхним синкарпным тримерным пиренариям *Butia*-типа.

О структуре плода *Ostryopsis davidiana* Dec. (Betulaceae s.l.)

Яценко Ольга Владимировна

(Главный ботанический сад им. Н.В.Цицина РАН, Россия, Москва,

olga.yatsenko.msu@gmail.com)

Семейство *Betulaceae* распространено в умеренных и бореальных широтах Северного полушария, некоторые виды достигают Южного полушария. Плоды *Betulaceae* обычно односеменные, барохорные или анемохорные, могут иметь обертку, развивающуюся из 2-3 брактеек. Анатомическое строение плодов березовых изучено слабо – в литературе встречаются данные по анатомии перикарпия некоторых видов *Corylus*, *Betula*, *Alnus* (Корчагина, 1991) и *Ostrya* (Яценко и др., 2009). Плоды *Ostryopsis davidiana* заключены в трубчатую, опушенную обертку с оттянутой верхушкой. Сами плоды уплощены, имеют овальные очертания на поперечном срезе с 8-10 слабо выраженными продольными ребрами. Стенка плода дифференцирована на эпикарпий и перикарпий. Эпикарпий состоит из трех зон. Наружная зона представлена однослойной эпидермой из клеток с утолщенными и неодревесневающими клеточными стенками. Однослойная гиподерма сформирована клетками с утолщенными неодревесневающими клеточными стенками. Внутренняя паренхимная зона представлена 6-7 слоями клеток. Клетки обеих внутренних зон содержат флобафены. Перикарпий состоит из мезокарпия, дифференцированного на периферическую и внутреннюю зоны, и эндокарпия. Наружная зона мезокарпия представлена 2-3 слоями паренхимных клеток, а внутренняя – 10-12 слоями клеток с утолщенными и одревесневающими клеточными стенками. 3-4 слоя клеток эндокарпия паренхимные, большей частью сжаты или отсутствуют в зрелом плоде. Таким образом, перикарпий *O. davidiana* характеризуется массивной каменной внутренней зоной мезокарпия и паренхиматизированными не склеренхиматизированными эпикарпием, наружной зоной мезокарпия и эндокарпием. Анатомическое строение перикарпия *O. davidiana* имеет существенное сходство с таковым у *Corylus* и *Ostrya*: развитие массивной зоны склеренхиматизированных клеток во внутренней зоне мезокарпия. Плоды *Corylus* имеют каменный эпикарпий и мезокарпий, *Ostrya* – одревесневающий эпикарпий и внутренний мезокарпий, которые разделены паренхиматизированной зоной. По совокупности анатомических признаков плоды *O. davidiana* следует относить к пиренариям *Olea*-типа, структура которых осложнена одревесневшими эпидермой и гиподермой эпикарпия. Прогрессивная склеренхиматизация внутренних зон эпикарпия и наружной части мезокарпия в плодах типа *Ostryopsis davidiana* приводит к формированию плодов с полностью склеренхиматизированными эпикарпием и мезокарпием (орехом *Corylus*-типа), развивающихся у представителей рода *Corylus*. Плоды *Ostrya* представляют собой промежуточный эволюционный тип, связывающий пиренарии *Olea*-типа, описанные у *O. davidiana*, и орехи *Corylus*-типа, формирующиеся у видов *Corylus*. Неполная

склеренхиматизация эпикарпия и мезокарпия в плодах *Ostryopsis* является адаптацией к анемохории, уменьшающей массу плода. *Ostryopsis* обладает рядом архаичных карпологических признаков. Для более полного понимания эволюции плодов представителей семейства *Betulaceae* s.l. необходимы дополнительные онтогенетические карпологические исследования большего числа видов, представляющих все роды семейства.

ПОДСЕКЦИЯ «ВИРУСОЛОГИЯ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Использование псевдолентивирусной системы для исследования антиретровирусных препаратов на основе shRNA

Григорьев Илья Владимирович¹, Алембеков И.Р.², Чересис С.В.¹

*(¹Новосибирский государственный университет, Медицинский факультет, Россия
Новосибирск, ²Институт молекулярной Биологии имени В.А. Энгельгардта, Россия, Москва, ilyag2@yandex.ru)*

Псевдотипированные лентивирусы — это получаемые в системе *in vitro* вирусные препараты, в физиологическом плане практически неотличимые от природных инфекционных вирионов ВИЧ-1, но биологически безопасные, поскольку геномная РНК псевдовirusа содержит лишь регуляторные последовательности ВИЧ и репортерный ген, но не гены вирусных белков

Целью данной работы было проанализировать пригодность псевдовirusной системы для оценки эффективности shRNA, гомологичных консервативным участкам последовательностей вирусных генов обратной транскриптазы, интегразы, белка вирусного матрикса P17 (*gag*) и поверхностного гликопротеина *env* (gp120) ВИЧ-1. Проведен анализ зависимости ингибирующей активности shРНК от числа однонуклеотидных замен в консервативной области между последовательностями shRNA и сайта-мишени в вирусном геноме.

Псевдовirusы получали методом трансфекции последовательностей лентивирусного генома в составе 3 плазмид — векторной, упаковочной и экспрессирующей поверхностный антиген - в высокотрансфектабельные клетки линии 293Т. Инфицированные клетки экспрессируют eGFP в результате интеграции в их хромосомы проvirusа, содержащего репортерный ген, что использовалось для определения трансдуцирующего титра лентивирусного препарата методом проточной цитометрии (по проценту GFP-положительных клеток). В экспериментах с ингибиторами делали котрансфекцию 4х плазмид, к лентивекторным добавляли экспрессирующую shRNA плазмиду. Эффективность подавления экспрессии лентивирусного генома каждой shRNA определяли как отношение доли экспрессирующих клеток в ингибированном образце к доле GFP-экспрессирующих клеток в положительном контроле. Через 48 ч после трансфекции наблюдается ингибирование образования лентивирусов в клетках-продуцентах, максимальное для shRNA, гомологичной консервативной области обратной транскриптазы ВИЧ-1, и достигает 90%. Высокая эффективность shRNA наблюдается в случае не более одной замены между интерферирующей РНК и транскрипта-мишени, тогда как 2 или 3 замены в мишени дают падение эффективности подавления до 10-30%. Это согласуется с данными о появлении вирусных вариантов-беглецов, уходящих из-под контроля интерферирующих РНК за счет появления одной нуклеотидной замены в сайте-мишени.

Полученные результаты показывают, что данную систему можно использовать для первичного массового скрининга shRNA, для отбора максимально эффективных соединений и дальнейшей проверки в вирус-клеточных системах с многократным репликационным циклом.

Получение штаммов гибридных клеток продуцентов моноклональных антител к антигену вируса лейкоза крупного рогатого скота

Жылкыбаев Асылбек Айтанулы, Белялова А.Р., Кузнецов Н.А.

(РГП «Национальный центр биотехнологии Республики Казахстан», Республика Казахстан, Астана, askokshe@mail.ru)

Лейкоз крупного рогатого скота - хроническая инфекционная болезнь опухолевой природы, в большинстве случаев протекает бессимптомно, примерно у 30 % зараженных животных в течение 3 лет проявляется персистентным лимфоцитозом, образованием опухолей в кроветворных и других органах и тканях. Лейкоз наносит большой

экономический ущерб, который складывается из падежа больных животных, остановки племенных работ, расхода средств на проведение комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий, селекционно-зоотехнических работ и оздоровительных мероприятий. Несмотря на проводимые мероприятия по оздоровлению хозяйствующих субъектов от этой болезни, в республике сохраняется высокий уровень пораженности стад, опережая темпы распространения таких социально значимых болезней, как туберкулез и бруцеллез. Успешным решением сложившейся ситуации может являться создание эффективных тест-систем с использованием высокочувствительных реагентов-моноклональных антител, направленных на диагностику лейкоза.

В связи с этим, целью нашего исследования являлось получение гибридных клеток, продуцирующих моноклональные антитела к антигену вируса лейкоза, для дальнейшего их использования в разработке тест-систем (ИФА, РИФ). Гибридизацию миеоломной линии клеток X63Ag8.653 и иммунных спленоцитов проводили по общепринятому методу V.Oi, L. Herzenberg. При тестировании полученных гибридных клеток на способность продуцировать антитела выявлено, что из полученных клонов восемь клонов дали положительный результат. Гибридные клетки, продуцирующие антитела, трехкратно клонировались методом лимитирующего разведения. Клонированные штаммы гибридных клеток не меняли своих свойств в течение 16 пассажей.

В результате наших исследований отобраны 3 наиболее активных штамма гибридных клеток, (2F2, 2F5, 2F3) стабильно продуцирующих моноклональные антитела к антигену вируса лейкоза крупного рогатого скота. Полученные гибридные клетки, синтезирующие моноклональные антитела, обладают высокой продуктивностью *in vivo* до 32 мг/мл, *in vitro* до 0,05 мг/мл.

Проведенные исследования показали, что полученные штаммы гибридных клеток могут использоваться, как стабильные продуценты моноклональных антител к антигену вируса лейкоза крупного рогатого скота.

Работка модели для анализа взаимодействия пептида A_β и Prion protein в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*

Коржова Виктория Валерьевна, Антонец К.С.

(Санкт-Петербургский государственный университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Санкт-Петербург, viktoria.korzhova@gmail.com)

В 1997 С. Прусинер получил Нобелевскую премию за описание принципиально нового типа инфекционных агентов – прионов, основу которых составляет белок PrP (Prion Protein), являющийся нормальным клеточным белком, но находящийся в измененной конформации. Заболевания, связанные с аномальной укладкой белков и образованием их агрегатов – амилоидов – называют амилоидозами. В настоящее время кроме инфекционных амилоидозов известны и неинфекционные. Одним из наиболее распространенных среди них является болезнь Альцгеймера, связанная с образованием агрегатов пептида A_β. Показано, что пептид A_β и белок PrP способны к взаимодействию: PrP в растворимой изоформе специфично связывает олигомеры A_β и, таким образом, способен влиять на проявление болезни.

Для анализа возможности взаимодействия агрегатов PrP и пептида A_β мы использовали дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Мы получили дрожжевые штаммы, продуцирующие белок PrP или пептид A_β, слитые с одним из флуоресцирующих белков – GFP, CFP или YFP. Методом флуоресцентной микроскопии мы показали, что продукция белков A_β-GFP и PrP-GFP приводит к формированию в дрожжевых клетках флуоресцирующих агрегатов. Они имеют цитоплазматическую локализацию и не колокализуются с клеточными компартментами. Мы также провели биохимический анализ белков PrP-GFP и A_β-GFP из дрожжевых клеток и установили, что их агрегаты проявляют биохимические характеристики, сходные с агрегатами, выделенными из мозга больных млекопитающих: устойчивость к действию протеиназы К и детергенов. Мы показали, что в дрожжевых клетках наблюдается колокализация агрегатов белков A_β и PrP, слитых с белками CFP и YFP. В дальнейшей работе планируется исследование возможности физического

взаимодействия этих гибридных белков и их агрегатов в дрожжевых клетках методом FRET. Таким образом, полученная нами модель позволяет изучать возможные взаимодействия белков A_β и PrP в живых клетках, искать факторы, влияющие на эти процессы, а также анализировать в этой системе потенциально терапевтические вещества.

Работа выполнена при поддержке ФЦП "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009 - 2013 годы Госконтракт П-2619.

Разработка нового вирусного вектора для суперэкспрессии целевых белков в растении и получения вирусоподобных частиц

Путляев Егор Валерьевич, Смирнов А.А.

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, putl@voxnet.ru)

Использование вирусоподобных частиц (ВПЧ) как платформы для презентации антигенов является одним из наиболее перспективных подходов для производства вакцин. Белки оболочки (БО) различных вирусов растений образуют ВПЧ в отсутствие вирусной нуклеиновой кислоты. Накопление целевых белков в растении имеет ряд преимуществ перед другими системами экспрессии: отсутствие общих с человеком патогенов, высокий уровень экспрессии, низкая себестоимость, возможность быстрого наращивания объема производства. Поэтому, накопление в растении химерных БО для образования вирусоподобных частиц является перспективным методом для получения вакцин.

Ранее в нашей лаборатории был описан новый штамм вируса мозаики альтернантеры (AltMV-MU (GenBank FJ822136.1)), БО которого способен образовывать вирусоподобные частицы в отсутствие вирусной РНК. Для эффективной сборки вирусоподобных частиц необходимо большое количество БО. Поэтому, целью данной работы было разработать вирусный вектор, обеспечивающий накопление БО вируса мозаики альтернантеры (ВМАльт) в листьях *Nicotiana benthamiana*, в количестве, достаточном для эффективного образования ВПЧ.

Нами был получен вирусный вектор на основе кДНК копии геномной РНК AltMV-MU, в котором гены трех транспортных белков были делетированы. По нашим сведениям, это первый вирусный вектор на основе ВМАльт, имеющий такую архитектуру. Данный вирусный вектор был агроинокулирован в листья растения *Nicotiana benthamiana*. Анализ трансформированной ткани показал, что полученный нами вирусный вектор в присутствии универсального ингибитора посттранскрипционного у молчания генов вируса кустистой карликовости томатов р19 обеспечивает накопление до 5 г БО ВМАльт на 1 кг сырой листовой массы, что соответствует примерно 50 % массы всех растворимых белков зараженного листа. Исследования методом просвечивающей электронной микроскопии показали, что достигнутый нами уровень накопления БО достаточен для эффективного образования ВПЧ.

Таким образом, в данной работе был разработан новый «деконструированный» вирусный вектор, обеспечивающий высокий уровень накопления БО ВМАльт в листьях *Nicotiana benthamiana*, достаточный для эффективного образования ВПЧ. В дальнейшем, полученный вирусный вектор может быть использован для получения ВПЧ, декорированных различными антигенами, а также для накопления в растении целевых белков.

Роль микротрубочек в транспорте ТБГ1 вируса скручивания верхушек картофеля Шемакина Елена Андреевна

(Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, tyrmica@rambler.ru)

Внутриклеточный и межклеточный транспорт вируса скручивания верхушек картофеля (ВСКВ) осуществляется при участии транспортных белков ТБГ1, ТБГ2 и ТБГ3, кодируемых тремя частично перекрывающимися генами, составляющими так называемый тройной блок генов. Предполагается, что транспортной формой вирусного генома является

рибонуклеопротеидный комплекс, состоящий из вирусной геномной РНК, связанной с белком ТБГ1. Белки ТБГ2 и ТБГ3 участвуют в доставке этого комплекса к межклеточным каналам - плазмодесмам.

В данной работе анализировались локализация и внутриклеточный транспорт белка ТБГ1 ВСВК в присутствии белков ТБГ2 и ТБГ3 в живых клетках *Nicotiana benthamiana*. Для этого был сконструирован плазмидный вектор, содержащий две экспрессионные кассеты. Первая из них несла ген белка ТБГ1, слитый с зеленым флуоресцирующим белком (green fluorescent protein, GFP) под контролем сильного конститутивного 35S-промотора, тогда как вторая – перекрывающиеся гены, кодирующие белки ТБГ2 и ТБГ3, под контролем промотера нопалин-синтазы, существенно более слабого в сравнении с 35S-промотором. Такая конструкция позволяет (1) гарантировать экспрессию белков GFP-ТБГ1 и ТБГ2/ТБГ3 в одной клетке и (2) экспрессировать транспортные белки в соотношении, близком к природному. Векторная конструкция доставлялась в растения с помощью инфильтрации листьев суспензией клеток *Agrobacterium tumefaciens*. Локализацию белков детектировали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа.

Было показано, что на второй день после инфильтрации GFP-ТБГ1 локализовался в ядре и был ассоциирован с микротрубочками. На третий день GFP-ТБГ1 также обнаруживался в ассоциации с микротрубочками и образовывал гранулярные тельца, располагающиеся на микротрубочках, а также локализовался в отдельных точечных структурах в клеточной стенке. На четвертый день GFP-ТБГ1 наблюдался в основном в точечных структурах, расположенных в клеточной стенке, и в околоядерных включениях, напоминающих агросомы – предполагаемые места непротеосомной деградации белков. Было выявлено, что на четвертый день после инфильтрации GFP-ТБГ1 колокализовался с каллозой, характерной для участков клеточной стенки, обогащенных плазмодесмами, и, кроме того, оставался в клеточной стенке после плазмолиза, что указывает на направленный транспорт GFP-ТБГ1 в плазмодесмы в присутствии белков ТБГ2/ТБГ3.

Проведен анализ ряда мутантов белка ТБГ1, показывающий, что взаимодействие с микротрубочками играет важную роль в доставке белка к клеточной стенке. Разрушение микротрубочек с помощью колхицина также подтверждает, что они являются необходимыми для внутриклеточного транспорта белка ТБГ1 и для образования околоядерных включений (агросом).

Предполагается, что взаимодействие белка ТБГ1 ВСВК с микротрубочками необходимо для формирования транспортного рибонуклеопротеидного комплекса, а также может быть важно для направления избыточного белка к местам его деградации.

Частичное секвенирование и филогенетический анализ вируса мозаики сои, выделенного в Подольском регионе Украины

Шерепитко Дмитрий Валентинович.

(Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Украина, Киев, supervirusok@gmail.com)

Вирус мозаики сои (ВМС) является возбудителем одной из основных и наиболее вредоносных вирусных болезней сои (*Glycine max* L. Merr.), встречающейся в большинстве мировых регионов возделывания этой культуры. Данный вирус вызывает значительные потери урожая (10-90%) и ухудшение качества зерна. Исследователи ряда стран сообщают о появлении новых изолятов ВМС, способных преодолевать действие известных генов вирусостойчивости сои. Несмотря на интенсивное изучение штаммового разнообразия ВМС во всем мире, на Украине, где площади выращивания сои в последние годы стремительно возрастают, такие исследования не проводились.

В 2008-2009 гг. было проведено обследование селекционно-опытных участков в Винницкой области, в результате чего у 30 из 45 сортов сои отечественной и зарубежной селекции выявлены симптомы ВМС, который был идентифицирован методом DAS-ELISA. Дальнейшие исследования биологических и молекулярно-генетических свойств выделенного нами ВМС с использованием методов биотипирования, ПЦР-анализа и секвенирования проводились с целью сравнения украинского изолята с уже известными зарубежными изолятами данного вируса и получения информации о его происхождении.

Используя информацию из Генбанка (GenBank®, NCBI) о нуклеотидных последовательностях известных штаммов ВМС были подобраны праймеры к участкам консервативного гена капсидного белка (СР) и более варибельного гена сериновой протеазы (Р1). Полученные в результате ОТ-ПЦР ампликоны размером 469 п.н. и 934 п.н. для СР и Р1 соответственно, были в последующем просеквенированы. Филогенетический анализ первичных последовательностей генов Р1 и СР украинского и 18 зарубежных изолятов ВМС выявил высокую степень гомологии (Р1-99,3%; СР-100%) с американским изолятом VA2 (Вирджиния), который входит в одну группу с штаммами G2 и G4, при этом мы не обнаружили четкой генетической дифференциации между азиатскими и североамериканскими популяциями данного вируса.

Таким образом, учитывая реакцию маркерных сортов сои на инфицирование изучаемым изолятом ВМС и результаты филогенетического анализа, можно сделать предположение о занесении в Украину G2 штамма ВМС, который является самым распространенным на территории США. Впервые в Украине выявили и идентифицировали ВМС с использованием молекулярных методов.

ПОДСЕКЦИЯ «ГЕНЕТИКА»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Оценка уровня гетерозиготности пород лошадей по анонимной последовательности ДНК

Бардуков Николай Владимирович, Эркенов Т. А.

(РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Россия, Москва, bardukv-nikolajj@mail.ru)

Применение молекулярно-генетических методов (МГМ) в животноводстве обусловлено необходимостью получения достоверных данных в селекционной работе, сбора полной информации о каждом животном, подтверждения родословной животного с целью исключения ошибок селекционера. Также МГМ с успехом применяются в популяционно-генетических исследованиях. Обширное применение этих методов в животноводстве позволит повысить эффективность селекции и, следовательно, должно привести к ускорению развития отрасли.

В своих исследованиях мы использовали один из наиболее простых, дешёвых и информативных молекулярно-генетических методов – использование полимеразной цепной реакции (Polymerase Cycle Reaction – PCR) с применением ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeat) маркёров, представляющими собой участки микросателлитных локусов с якорным нуклеотидом. Исследованы 164 лошади, из которых: 96 алтайской породы из разных хозяйств, 20 карачаевской породы и 48 лошадей рысистых пород.

По четырём ISSR-PCR маркёрам произведена оценка полиморфизма по локусам спектра амплификации. По всем группам животных найдены значения индекса PIC (Polymorphic Information Content), показывающего частоту встречаемости гетерозигот. Найдены усреднённые по четырём маркёрам значения индекса. По методу Нея (1972) найдены значения генетических дистанций между исследованными породами и внутри самих пород. Построена дендрограмма генетических взаимоотношений между группами исследованных животных. Породы образовали кластеры в полном соответствии с историей происхождения.

На основании полученных данных сделаны предположения о породоспецифичных особенностях распределения ампликонов в спектре амплификации. Выявлена дифференциация местных, заводских и переходных пород лошадей по частоте гетерозигот в анонимных участках ДНК. Так, наиболее гетерозиготными оказались лошади алтайской породы, которые не испытывают жёсткого инбридинга и целенаправленной селекции. Следовательно, данные об уровне гетерозиготности внутри породы по локусам анонимной последовательности ДНК могут учитываться в спорных вопросах классификации пород на местные, переходные и заводские.

Сравнительный анализ последовательностей ДНК промоторных областей, экзонов и интронов гена *Dras1* у видов *Drosophila* группы *virilis*

Барсуков Максим Ильич, Прошаков П. А.

(Московский педагогический государственный университет, Россия, Москва, barsS7@yandex.ru)

Семейство генов *ras1* кодирует группу GTP-связывающих белков, играющих важную роль в передаче сигналов в составе Ras-зависимых сигнальных каскадов. Белки Ras1 функционируют в течение всего развития практически всех эукариот. Высокий консерватизм последовательности *Dras1* предполагает накопление исключительно нейтральной изменчивости в последовательности гена. Проведенный в ряде работ анализ последовательности генов *Adh1*, *Gpdh* и других, участвующих в формировании пищевых адаптаций и подверженных направленному отбору, показал противоречивые картины филогенеза, отличающиеся от полученных по данным инверсионного полиморфизма, в группе видов *D. virilis*. По-видимому, направленный и сопутствующий отбор по используемой последовательности могут смещать оценки родства между видами.

Мы провели сравнительный анализ последовательностей ДНК гена *ras1* группы близкородственных видов *Drosophila*: *D. virilis*, *D. lummei*, *D. littoralis*, *D. kanekoi*, *D. ezoana*).

Нуклеотидную последовательность продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР) определяли методом циклического секвенирования. Среднее количество секвенированных нуклеотидных пар различных участков гена *Dras1* у данных видов: промоторный район – 120; 5'UTR(a) – 269; интрон 1 (расположенный в 5'- UTR) – 377; 5'UTR(b) – 157; экзон 1 – 138; интрон 2 – 80; экзон 2 – 258; интрон 3 – 67; экзон 3 – 171; всего – 1637. На основании выявленных нуклеотидных замов были построены дендрограммы генетических расстояний между исследованными видами.

Показано, что высокая консервативность гена позволяет предположить наибольшую близость *D.virilis* к предковому виду и выделить его в качестве самостоятельной субфилады. Приведены статистические данные в пользу нейтральности рассматриваемых замов в гене *Dras1*. Такой характер эволюции гена *Dras1* позволяет надежно реконструировать филогенетические отношения близкородственных видов. Итоговое древо для основных филад выглядит следующим образом: [*D.virilis* (*D.lummei*), *montana* (*D.kanekoi*, *D.littoralis*, *D.ezoana*)]. Полученная картина взаимоотношения видов соответствует предполагаемой ранее на основании анализа морфологических и цитогенетических признаков, а также последовательностей высококонсервативного 3' района гена 16S рРНК.

Работа поддержана РФФИ (проект № 08-04-00959).

Роль полиморфных маркеров генов факторов воспаления в формировании наследственной предрасположенности к эссенциальной гипертензии

Белоногова Валерия Александровна, Насибуллин Т.Р.

(Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, лаборатория физиологической генетики, Россия, Уфа, valery259@mail.ru)

Эссенциальная гипертензия (ЭГ) - один из основных факторов риска сердечнососудистых заболеваний, которые являются причиной более половины всех случаев смерти в России, что определяет актуальность научных изысканий, направленных на активный поиск и разработку эффективных первичных и вторичных мер профилактики ЭГ.

Цель настоящего исследования состояла в оценке роли полиморфных маркеров rs3091305 (-3328A>C, ген *CXC3R*, Xq13.1), rs2076059 (3832T>C, ген *SELE* 1q24.2) и rs6131 (*N331S*, ген *SELP* 1q24.2) в формировании наследственной предрасположенности к ЭГ.

В исследование были включены 234 человек с ЭГ и 187 человек без признаков сердечно-сосудистых заболеваний. Все участники исследования были мужского пола в возрасте от 20 до 55 лет из этнической группы татар. Генотипирование проводилось с помощью полимеразной цепной реакции с последующим рестрикционным анализом. Для статистического анализа полученных результатов использовался пакет программ SPSS v. 18, оценка ген-генных взаимодействий проводилась с помощью программы MDR 2.0.

Анализ ассоциаций исследованных полиморфных маркеров выявил существенные различия в распределении частот генотипов гена *SELP*: в группе больных в отличие от контрольной группы существенно повышена частота генотипа N/S (37.18% и 28.9% соответственно P=0.025). Изучение ген-генных взаимодействий установил выраженный синергизм генов *SELE* и *CXC3R*. Проведён многофакторный логистический регрессионный анализ, где в качестве предикторов выступал полиморфный маркер гена *SELP* и сочетание полиморфных маркеров генов *CXC3R* и *SELE*. Согласно полученным результатам факторами повышенного риска ЭГ являются генотип N/S гена *SELP* (OR=1.89, P=0.035) и сочетание генотипов C/T (*SELE*) и C/C (*CXC3R*) (OR=1.68, P=0.05).

Таким образом, изученные нами полиморфные маркеры вносят существенный вклад в формирование наследственной предрасположенности к ЭГ.

Взаимодействия между гомологичными хромосомами индуцируют неаддитивную экспрессию репортерного гена *mini-white* у *D. melanogaster*

Былино Олег Валерьевич

(ФГУ «НИИ Вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, Москва, bylino@gmail.com)

Пространственная организация хромосом внутри интерфазного ядра и их взаимодействия рассматриваются в настоящее время как один из важных механизмов регуляции экспрессии генов. Межхромосомная коммуникация впервые была обнаружена у дрозофилы и позднее у многих других организмов, в том числе и у человека. Вместе с тем роль межхромосомной коммуникации в регуляции активности генов изучена недостаточно. В качестве модели использовался репортерный трансген *mini-white*, экспрессию которого исследовали в различном хроматиновом окружении и геномном положении. Мы показали, что соматическая конъюгация интерфазных хромосом у дрозофилы способна оказывать положительный эффект на экспрессию в эухроматине и индуцировать ее в гетерохроматине. Мы обнаружили, что взаимодействия репортерных генов на гомологичных хромосомах в эухроматине возможны на расстоянии порядка 30-50 т.п.о. Проанализировав экспрессию репортера в составе молекулярных конструкций различного типа, мы выяснили, что подобные взаимодействия возникают вследствие воздействия на *mini-white* эндогенных регуляторных элементов, энхансеров. Мы предполагаем, что транскоммуникация *mini-white* является следствием эффекта положения репортера в геноме и возникает при случайном воздействии DPE- (downstream core promoter element)-зависимых энхансеров на DPE-содержащий промотор *mini-white*. Близость к такому энхансеру и разреженная структура хроматина определяют степень активации *mini-white*. Полученные данные расширяют представления о значении межхромосомной коммуникации в регуляции экспрессии генов у дрозофилы, а также пополняют сведения о свойствах гена *mini-white* дрозофилы.

Серия модульных векторов для клонирования целевых генов и регуляторных элементов с целью обеспечения стабильной и эффективной экспрессии гетерологичных генов в растениях

Вячеслава Алина Олеговна¹, Бердичевец И.Н.¹, Шмишлайшвили Х.Р.¹, Савчин Д.В.², Голденкова-Павлова И.В.¹

(¹Институт Общей Генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, Москва, ²ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, alisavo@gmail.com)

Трансгенные растения широко используются как модели для фундаментальных исследований физиологической роли растительных генов и для решения прикладных задач по созданию устойчивых форм сельскохозяйственных культур и продукции рекомбинантных белков в растениях. Успех в этих направлениях, прежде всего, связан с эффективностью экспрессии перенесенного гена (трансгена) в растениях, которая обусловлена рядом факторов: кодоновым составом трансгена; регуляторными элементами, контролирующими его экспрессию; интеграцией трансгена в определенные участки генома растений, и др. Важную роль в создании трансгенных растений играют экспрессионные вектора, используемые для трансформации растений. В связи с вышеизложенным, создание новых векторных систем для клонирования целевых генов и регуляторных элементов с целью обеспечения стабильной и эффективной экспрессии гетерологичных генов в растениях является актуальной задачей.

На основе анализа литературы и баз данных геномов растений сконструирована серия модульных векторов, в которых учтено большинство факторов, обеспечивающих стабильную и эффективную экспрессию гетерологичных генов в растениях, а именно: окружение иницирующего ATG кодона целевого гена; последовательности, кодирующие стабилизирующие аминокислоты во втором положении после иницирующего кодона; локализация и состав кодонов, терминирующих транскрипцию; оптимальный состав области полиададенирования. Помимо этого, модульная структура сконструированных векторов позволяет легко проводить замену регуляторных элементов, контролирующих экспрессию гетерологичного гена в растениях, таких как промоторы, последовательности лидерных

пептидов, последовательности 3'- и 5'-некодирующих областей, важных для эффективной экспрессии трансгена.

Сконструированные вектора были успешно апробированы с использованием транзиторной и стабильной экспрессии ряда гетерологичных генов и регуляторных элементов и предлагаются как для анализа новых регуляторных элементов, так и для обеспечения эффективной экспрессии трансгенов в растениях.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ №09-04-01518_a и №10-04-90909-моб_снг_ст.

Использование сайт-направленного мутагенеза стартовых кодонов гена *speA* для инициации альтернативной инициации трансляции

Глазова Ольга Владимировна

(Самарский государственный университет, Россия, Самара, plach_detka@inbox.ru)

Ген *speA* супрессирует патогенность бактерий *Erwinia carotovora*. В пределах открытой рамки считывания гена находятся 6 кодонов AUG, потенциально претендующих на роль иницирующих. Перед тремя из них (*start 2*, *start 4* и *start 6*) располагаются пуриин-богатые участки, в различной степени обладающие гомологией с последовательностью Шайна-Дальгарно (SD1, SD2 и SD3, соответственно). С целью проверки функциональной активности *in vivo* всех имеющихся SD создан ряд генетических конструкций, где использован ген зелёного флуоресцирующего белка, *egfp*, в качестве репортерного.

Продемонстрированы различия в функциональной активности трех исследуемых структур. Вестерн-блот анализ, проведенный с применением поликлональных антител к GFP, показал наличие ряда сигналов разной интенсивности, соответствующих белкам с различными молекулярными массами. Это свидетельствует об одновременном, но неравнозначном участии в инициации трансляции всех трех структур SD. Установлен также факт инициации трансляции со стартовой точки 1, не имеющей перед собой последовательности SD. По-видимому, для этого необходимо присутствие нуклеотидной последовательности, расположенной между стартовыми точками 1 и 2, т.к. постановка гена *egfp* непосредственно под стартовую точку 1 не приводила к его экспрессии.

Для подтверждения факта альтернативной инициации трансляции, на базе векторной плазмиды pET28b была создана конструкция, в которой ген *speA* был соединен с репортерным геном зелёного флуоресцирующего белка. Продукт этого рекомбинантного гена представляет собой химерный белок, состоящий из двух доменов: N-концевого *SpeA* и C-концевого GFP. Проведен сайт-направленный мутагенез иницирующих кодонов *start 2* и *start 6* рекомбинантного гена *speA-egfp*. Получены три мутантные конструкции, в которых последовательно элиминированы иницирующие кодоны *start 2*, *start 6* и оба кодона вместе. Клетки *E. coli*, трансформированные этими конструкциями, сохранили способность к флуоресценции подобно контрольным клеткам, содержащим исходную плазмиду, что свидетельствовало об инициации трансляции с нескольких стартовых точек. Вестерн-блот анализ белков мутантных клонов, продемонстрировал изменение спектра сигналов по сравнению с контролем. У клона с мутацией иницирующего кодона *start 6* наблюдалось исчезновение белка с молекулярной массой 50,4 kDa. Неожиданным оказалось то, что удаление стартового кодона *start 2* не привело к ожидаемому исчезновению белка соответствующего молекулярного веса. То же самое касается и двойного мутанта, у которого зафиксировано исчезновение только одного сигнала. Этот факт требует дальнейшего детального изучения и проверки.

Генетические особенности «мешеры» Земетчинского района Пензенской области по данным о полиморфизме мтДНК

Грошева Александра Николаевна

(Институт общей генетики им Н. И. Вавилова РАН, лаборатория генетики человека Россия, Москва, k294_chew@mail.ru)

Проведен популяционно-генетический анализ населения сел Кириллово, Вяземка и Большая Ижмора Земетчинского района Пензенской области. Интерес к этому населению

вызван его самоназванием и определением со стороны окружающих как «мещера», что подкрепляется рядом культурных и лингвистических особенностей. Был поставлен вопрос: связана ли Земетчинская «мещера» с этнонимом – одноименным древним поволжско-финским племенем, или же это самоназвание связано с топонимом – Мещёрской низменностью, а само население является русским.

Были сформулированы две гипотезы: если население сел русское, то его генетические характеристики будут типичны для русских Пензенской области. С другой стороны, если население связано с племенем мещера, то следует ожидать его сближения с поволжскими финнами и отдаление от славян. Для проверки гипотез был исследован полиморфизм мтДНК из образцов крови жителей трех указанных сел, а также русского сельского населения Нижнеомовского района Пензенской области. В работе использовались стандартные молекулярно-генетические (ПЦР-ПДРФ, секвенирование ГВС1 мтДНК) и статистические (расчет генетических расстояний, построение филогенетических сетей, многомерное шкалирование) методы.

В результате исследования в популяциях Кириллово и Вяземки, в отличие от выборки Большой Ижморы и Нижнеомовского района, был выявлен «монголоидный» компонент, представленный восточноевразийскими гаплогруппами мтДНК, с частотами, близкими к таковым у поволжских и пермских финнов. Анализ генетических расстояний показал, что популяции Кириллово и Вяземки сближаются между собой и отдаляются от популяций Большой Ижморы и Нижнеомовского района. При этом выборки Кириллово и Вяземки сближаются с поволжскими финнами и удаляются от славян, в то время как выборка Большой Ижморы, как и Нижнеомовского района, сближается со славянами и удаляется от поволжских финнов.

Таким образом, в результате анализа полученных результатов и соотнесения их с выдвинутыми гипотезами, можно предположить, что в формировании населения Кириллово и Вяземки участвовало финно-угорское племя мещера, в то время как население Большой Ижморы является типично русским.

Анализ экспрессии генов, контролирующих развитие соцветия и цветка у мутантов гречихи посевной (*Fagopyrum esculentum* Moench) с использованием ПЦР-РВ

Демиденко Наталья Владленовна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, demidenkonatalia@gmail.com)

К настоящему времени достигнуты большие успехи в понимании генетического контроля развития цветка и соцветия у ряда объектов, таких как *Arabidopsis thaliana* (L.) Neuh. Однако процессы их формирования у других растений остаются малоизученными, что препятствует пониманию общих закономерностей развития и эволюции этих структур. *F. esculentum* – однолетнее травянистое растение из семейства *Polygonaceae*, порядок *Caryophyllales*. В отличие от большинства двудольных цветков гречихи формирует простой околоцветник.

В работе была изучена экспрессия генов, ортологичных генам флорального морфогенеза *A. thaliana* у растений дикого типа *F. esculentum* (сорт Даша) и трех мутантов; в том числе двух с изменением типа органов околоцветника (листовидные у *green corolla (gc)* и карпелоидные у *fagopyrum apetala (fap)*), и мутанта *tepal-like bract (tlb)*, который характеризуется развитием органов околоцветника на месте кроющих листьев цветков. Анализ экспрессии проводили с использованием ПЦР-РВ. Праймеры для исследуемых и референсных генов подбирали на основе последовательности транскриптома по гомологии с генами *A. thaliana*. Тесты устойчивости экспрессии показали, что лучшими для использования в качестве референсных являются гены *SAND*, *CACS* и ортолог гена *AT4G33380*.

В результате проведенных исследований было показано, что у мутанта *tlb* повышена экспрессия генов, контролирующих переход к цветению. Вероятно, именно ускорение зацветания приводит к развитию у этого мутанта органов околоцветника на месте кроющих листьев – последних перед цветками вегетативных органов. У всех мутантов, несмотря на

изменение типа органов околоцветника или изменение числа этих органов, не наблюдается существенных изменений в уровне экспрессии генов, отвечающих за развитие лепестков и тычинок (В-класс, согласно ABC модели генетического контроля определения типа органов цветка). Это свидетельствует в пользу предположения о неучастии этих генов в развитии околоцветника. При этом наблюдаемые изменения в уровне экспрессии генов, ортоголических генам *SEPALLATA A. thaliana*, позволяют предположить их участие в регуляции этого процесса.

Работа поддержана грантами РФФИ (09-04-01363), Миннауки РФ (ГК-П913, НШ-3293.2010.4, ГК-16.512.11.2153), программой УМНИК (№13151).

Использование молекулярно-генетических методов в мониторинге процесса реинтродукции двух популяций овцебыков

Ельсуква Ирина Александровна

(Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Россия, Москва, irinaelsukova@gmail.com)

В связи с завозом и успешной адаптацией овцебыков на территории Северной Азии возникла необходимость исследования генетической структуры образованных популяций с целью постоянного контроля их состояния. Проведение мониторинга позволит оценить успешность и целесообразность реинтродукции. Для исследования двух российских популяций *Ovibos moschatus* (о. Таймыр и о. Врангель), а также популяции о. Гренландия, был использован метод ISSR (inter sequence simple repeats) PCR. В качестве праймеров использовали ди- и тринуклеотидные инвертированные микросателлитные повторы (AG)₉C, (GA)₉C, (CTC)₆C, (GAG)₆C. Нами выявлены праймеры, отличающиеся коровым мотивом, применение которых наиболее информативно для решения поставленных задач. Каждый ампликон полученного спектра рассматривался нами как отдельный локус. Определены мономорфные (консервативные) и полиморфные локусы, выявлены локусы, специфические для каждой изученной популяции вида, определена частота встречаемости каждого полиморфного локуса. Мономорфными для всех изученных популяций локусами являются по праймеру (AG)₉C участки ДНК, фланкированные инвертированными микросателлитными повторами, длиной 450 и 340 п.о., по праймеру (GAG)₆C – 600 и 510 п.о., по праймеру (GA)₉C – 570 и 500 п.о. Для животных таймырской популяции по спектру ампликонов, получаемому при использовании праймера (AG)₉C, специфическим является встречаемость локусов длиной 1000 и 550 п.о., для гренландской – 220 п.о. По праймеру (GAG)₆C только у овцебыков гренландской популяции полиморфно встречается участок длиной 850 п.о., что может являться маркером данной популяции. Для дифференциации овцебыков гренландской популяции в качестве маркера может применяться участок ДНК – 850 п.о., полученный при использовании праймера (GAG)₆C. Полиморфизм по большому числу локусов характерен для гренландской популяции *Ovibos moschatus*. Наиболее гомогенной является популяция, обитающая на острове Врангеля, что подтверждается данными о завозе животных. Несмотря на то, что на данный момент численность популяции о. Врангель растет, ей следует уделять большее внимание, возможно, следует завести новых особей во избежание инбридинга.

Полиморфизм митохондриальной ДНК в популяциях яка Центрально-азиатского региона

Жабигин Максат Кизатович

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, patriotkz88@mail.ru)

На фоне экономического и продовольственного кризиса все большее значение придается изучению генетического разнообразия в области сельского хозяйства, в первую очередь тех пород, поголовье которых непрерывно сокращается. За последние 10 лет в Российской Федерации поголовья яка в Республике Алтай и Туве сократилось на 77% и 81% соответственно. В связи с этим необходимо изучить генетическое разнообразие в этих популяциях, поддержание которого является условием сохранения жизнеспособности популяций.

Як (*Bos grunniens*) относится к отряду *Artiodactyla*, семейство *Bovidae*, род *Bos*. Местами одомашнивания яка считаются Тибет, Северный Китай и Монголия. В наши исследования были отобраны популяции яков из Тувы (n=5), Монголии: Хусбугул(n=5), Гоби(n=5) и Алтая(n=7). Изучен молекулярно-генетический полиморфизм мтДНК. Для построения филогенетических деревьев также были взяты нуклеотидные последовательности из GenBank: 13 диких яка и один *Bison* как внешняя группа. Был отсеквенирован гипервариабельный район Д-петли мтДНК размером 570bp. Гаплоидная ДНК митохондрий проявляет материнский характер наследования, не рекомбинирует и имеет высокую скорость мутации, поэтому является хорошим инструментом в исследованиях филогенетики. На основании оценок распределения мутаций в мтДНК была проведена реконструкция эволюционных взаимосвязей внутри вида *Bos grunniens* и построено филогенетическое дерево дистанционно-матричным методом связывания ближайших соседей программой MEGA5. Оценка надежности дерева и его ветвей было основано на методе бутстрэп-анализа. Программой DNA Polymorphism были получены данные о числе полиморфных сайтов в последовательности (S=39), число гаплотипов нашей выборки (h=12) и нуклеотидное разнообразие ($P_i=0.02144$).

По результатам ранних исследований было показано, что домашние яки группируются на две материнские линии со временем их расхождения > 100 000 лет, а также что все домашние яки получены из генофонда одной дикой популяции. Наши исследования подтверждают данные о двух линиях мтДНК яков, которые присутствуют во всех изученных популяциях. Популяции Алтая и Тувы, несмотря на значительное сокращение их численности, сохранили заметные генетическое разнообразие и по этому показателю не находятся в угрожаяем состоянии.

Создание модельной системы на примере *Arabidopsis thaliana* для изучения явления соматической сегрегации

Зими́на Ольга Владимировна, Сытник Е. С., Парий М.Ф.

(Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Украина, Kuee, s-kat@yandex.ru)

В середине XX века было выявлено, что у многих видов растений в соматических клетках при определенных условиях (например, воздействие аланином, кофеином) во время деления происходит расхождение гомологичных хромосом, а не хроматид, как в норме у митотически делящихся клеток. Данное явление было названо соматической сегрегацией (соматической редукцией, погеномной сегрегацией). В работах Yihua (2001) и Ronchi (1992) была обнаружена взаимосвязь между формированием соматических эмбриондов и соматической редукцией у арабидопсиса и моркови. Несмотря на многочисленные цитогенетические исследования, до сих пор неизвестны причины и механизмы явления соматической редукции, неясно, происходит ли гомологическая рекомбинация, существуют ли закономерности распределения материнского и отцовского геномов между дочерними клетками, какой уровень плоидности образовавшихся клеток, и какова судьба этих клеток в дальнейшем.

В попытках найти ответы на часть из поставленных вопросов мы разработали модельную систему для визуализации поведения гомологичных хромосом и изучения генетических последствий данного явления – гибрид *Arabidopsis thaliana* между экотипами Columbia и Landsberg *erecta* с парой гомологичных хромосом, маркированных трансгенами. Для внесения маркеров Columbia был трансформирован конструкцией, содержащей селективный ген устойчивости к канамицину (*nptII*) и репортерный ген *gusA*. Для Landsberg *erecta* были использованы гены устойчивости к фосфинотрицину (*bar*) и *gfp*. Локализацию трансгенов выявляли с помощью Tail-PCR.

В наших экспериментах эмбрионды получали из корневых эксплантов и апикальных меристем побегов арабидопсиса. Созданный модельный гибрид используется для изучения соматической редукции при формировании соматических эмбриондов, а также в колониях протопластов, культивируемых с добавлением индукторов соматической редукции.

Наследование признаков у растений-регенерантов предполагается изучать с помощью ДНК-маркеров и наблюдения за экспрессией репортерных генов.

Изучение явления соматической редукции с помощью предложенной системы позволит не только ответить на ряд фундаментальных вопросов, изложенных выше, но и оценить возможность применения данного явления для осуществления обратной селекции (reverse breeding).

Функциональный анализ структурных и регуляторных генов, предположительно контролирующих гомеостаз железа у цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803

Клепикова Анна Владимировна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, annklepikova@mail.ru)

Ионы железа в роли кофакторов фундаментальных биологических процессов, таких как фотосинтез, клеточное дыхание и метаболизм супероксидов, необходимы для жизнедеятельности всех организмов, включая растения и бактерии. Однако, несмотря на изобилие железа в окружающей среде, его биологическая доступность существенно ограничена в аэробных условиях, поскольку в окисленном состоянии оно находится в трудно растворимых соединениях.

В связи с жизненно важной потребностью в ионах железа и существенными ограничениями в их доступности, значительная часть геномов аэробных организмов участвует в контроле поглощения железа из окружающей среды. В геноме цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803 идентифицировано 15 генов, предположительно связанных с контролем гомеостаза ионов железа. Поглощение и депонирование железа внутри клетки регулируется различными системами, к которым относятся репрессор транскрипции Fur, сигма-факторы семейства RpoD (σ^{70}) и регуляторы семейства AraC/XylS.

Семейство AraC/XylS является одним из основных семейств позитивных регуляторов экспрессии генов у бактерий. Биоинформатическими методами в геноме *Synechocystis* выявлены три гена – *sll1205*, *sll1408*, *slr1489*, предположительно являющихся регуляторами семейства AraC/XylS. Для исследования их роли в регуляции транспорта железа были получены одиночные мутанты $\Delta sll1205$, $\Delta sll1408$ и $\Delta slr1489$ с инсерционной инактивацией соответствующих генов, на основе которых были созданы двойные мутанты $\Delta sll1205/\Delta sll1408$, $\Delta sll1205/\Delta slr1489$ и $\Delta sll1408/\Delta slr1489$.

С помощью метода ОТ и ПЦР в реальном времени были определены уровни экспрессии генов, вовлеченных в контроль транспорта железа, у клеток, выращенных в условиях среды с нормальным содержанием химических элементов и в среде, лишенной железа. В результате данного исследования были выявлены гены (*slr1406*, *slr1405*, *slr1404*, *sll1407*, находящаяся в опероне), экспрессия которых возрастает в условиях голодания по железу, что указывает на возможную вовлеченность данных генов в контроль поглощения ионов железа. Изменения экспрессии исследуемых генов при инактивации генов-регуляторов семейства AraC/XylS выявлено не было, что указывает на отсутствие регуляции данных генов со стороны этих регуляторов.

Молекулярно-генетическое изучение аллеля *Wx-B1e* у мягкой пшеницы

Климушина Марина Вячеславовна

(Российский Государственный Аграрный Университет им. К.А. Тимирязева, Центр молекулярной биотехнологии, Россия, Москва, mklimushina@yandex.ru)

Крахмал является основным компонентом зерновки пшеницы и состоит из амилозы и амилопектина. Ключевым ферментом, обеспечивающим биосинтез амилозы, является GBSSI. Геном мягкой пшеницы несет три гомологичных гена, получивших название *Waxy*, кодирующих изоформы GBSSI. Мутации *Waxy*-генов влияют на количество амилозы и, соответственно, на физико-химические и функциональные свойства крахмала. Пшеница с нефункциональными *Waxy*-генами (нуль-аллелями) обладает перспективой использования по ряду важных направлений. Идентификация аллелей различного типа осуществляется с помощью SDS-электрофореза белков или ПЦР-анализа. Недавно был выявлен новый

аллельный вариант *Waxy*-гена – *Wx-B1e*, при амплификации с которого, один из молекулярных маркеров, давал ложноположительные результаты наличия в геноме нуль-аллеля. Целью нашей работы было молекулярно-генетическое изучение данного аллеля и вариантов амплификации на нем различных молекулярных маркеров. Работа проводилась на сорте мягкой пшеницы Коротышка методами ПЦР-анализа, SDS-электрофореза белков и секвенирования. Нами был клонирован и секвенирован фрагмент размером 804 п.о. аллеля *Wx-B1e*, полностью перекрывающий место посадки всех молекулярных маркеров на аллельное состояние гена *Wx-B*. При сравнении с сиквенсом аллеля мягкой пшеницы дикого типа (*Wx-B1a*) было выявлено, что изучаемый аллель несет инсерцию в 34 п.н., делецию в 8 пар нуклеотидов и 23 нуклеотидные замены. Но при этом различие по аминокислотной последовательности между аллелем *Wx-B1e* и аллелем дикого типа *Wx-B1a* составляет всего четыре аминокислотные замены. При анализе белков, находящихся в крахмале двадцатидневных зерновок, было выявлено, что у сорта Коротышка GBSSI белок, кодируемый *Wx-B1* геном, имеет несколько меньшую подвижность по сравнению с диким типом, на уровне *Wx-D1a* аллеля. При изучении амплификации молекулярных маркеров на аллеле *Wx-B1e*, было установлено, что при амплификации с праймерами, предложенными Мак-Лощеном с соавторами и Накамурой с соавторами не удается отличить нуль-аллель от аллеля *Wx-B1e*. Молекулярный маркер, разработанный Саито с соавторами, затрудняет идентификацию аллеля *Wx-B1e* и аллеля дикого типа, хотя при этом очень четко позволяет идентифицировать нуль-аллель. Наиболее подходящим маркером, позволяющим отличить все три аллеля (*Wx-B1b*, *Wx-B1e* и *Wx-B1a*), является маркер, разработанный Ванцетти с соавторами.

**Исследование экспрессии и функции гена *Grp*, гомолога гена *gag* ДКП-ретротранспозона *gypsy* у *Drosophila melanogaster*
Кузьмин Илья Владимирович, Шнырева А.А.**

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, РФ, г. Москва, kuzmin.ilya@gmail.com)

В ходе эволюционных процессов отдельные гены ретротранспозонов могут подвергаться процессу молекулярной доместикиции, то есть использоваться организмом-хозяином под свои нужды. Так, в нашей лаборатории ранее было обнаружено, что в геноме *D. melanogaster* находится ген *Grp*, гомологичный гену *gag* ретротранспозона *gypsy*, но функции данного гена неизвестны. Биоинформатический анализ аминокислотной последовательности продукта гена *Grp* показал, что у гипотетического белка имеется трансмембранный домен и РНК-связывающий домен на С-конце.

Мы клонировали полноразмерный ген *Grp* из геномной ДНК дрозофилы, а также его фрагменты, соответствующие N-концевой части белка до предсказанного трансмембранного домена и С-концевой части, в составе плазмиды рЕТ30а. При экспрессии молекулярных конструкций в клетках *E. coli* был получен полноразмерный рекомбинантный белок и два его фрагмента – С-концевой (GrpC) и N-концевой (GrpN). Наличие белка Grp у *D. melanogaster* исследовали методом вестерн-блот гибридинизации, а взаимодействие белков Grp, GrpN и GrpC с тотальной РНК *D. melanogaster* изучали посредством гель-шифт анализа (EMSA).

Вестерн-блот гибридинизация экстракта белков взрослых мух с антителами кролика, полученными к рекомбинантному Grp показала, что у имаго дрозофилы экспрессируется белок Grp. В качестве положительного контроля использовали рекомбинантный белок GrpN. Для проверки гипотезы о наличии РНК-связывающего домена на С-конце белка Grp была поставлена реакция взаимодействия рекомбинантных белков GrpC, Grp и GrpN с тотальной РНК, выделенной из взрослых особей *D. melanogaster*. По полученной картине распределения РНК было сделано предположение, что N-конец белка Grp не участвует во взаимодействии с РНК. В пробах с белком GrpC рисунок распределения РНК отличался от контрольного. По-видимому, С-конец белка гена *Grp* обладает РНК-связывающей функцией. У полноразмерного Grp также наблюдалось взаимодействие с РНК.

Таким образом, показано, что ген *Grp* экспрессируется на уровне трансляции в тканях взрослых мух. Ранее было показано, что транскрипция гена *Grp* происходит преимущественно в тканях кишки, поэтому важно изучить экспрессию гена *Grp* в разных тканях *D. melanogaster* на уровне трансляции. Планируется выделить и изучить специфичную РНК, связывающуюся с Grp.

Генотипы полиморфных локусов гена *IL1B* у людей с патологиями желудочно-кишечного тракта

**Кулмамбетова Гульмира Нигметжановна, Сукашев А. Т., Логвиненко А. А.,
Кожамбетов С. С.**

(РГП «Национальный центр биотехнологии», Национальный научный медицинский центр, Республика Казахстан, г. Астана, gulmirakn@gmail.com)

Различия в протекании и развитии различных патологий желудочно-кишечного тракта у людей связаны с особенностями иммунного ответа индивидов на инфекцию *Helicobacter pylori*. Уровень продуцируемости провоспалительного цитокина интерлейкина 1 бета зависит от замены одного нуклеотида в полиморфных локусах гена (*IL-1β-511C>T*) и *-31 (IL-1β-31T>C)*), что влияет на транскрипционную активность при синтезе цитокина.

Целью работы было выяснение особенностей полиморфных локусов гена *IL1B* у больных гастритом, язвенной болезнью желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ЯБДК) в г. Астане.

Обследовалось 146 пациентов Национального научного медицинского центра, в возрасте от 13 до 86 лет (средний возраст 42,6, соотношение мужчин/женщин = 74/72), контрольной группой являлись люди, в анамнезе которых диагноз патологий желудочно-кишечного тракта отсутствовал. Для определения полиморфизмов экстрагированную с помощью «DNA Purification Kit, Promega» ДНК амплифицировали, расшифровывали нуклеотидную последовательность амплифицированных фрагментов (ABI 3730xl, Applied Biosystems), данные анализировали в программном обеспечении SeqScape v.2.6.

В результате проведенных исследований было установлено, что слизистая оболочка желудка 66,6% обследованных больных ЯБЖ и ЯБДК инфицирована *H. pylori*. Обнаружено, что генотипы *IL-1β -511*C/*T*, *IL-1β -31*T/*C* (57%) ассоциированы с риском развития язвенной болезни при инфицировании СОЖ *H. pylori*, тогда как *IL-1β -511*C/*C*, *IL-1β -31*T/*T* (21%) определяют устойчивость к развитию язвенной болезни, ассоциированной с *H. pylori*.

У носителей аллели *IL-1B-511* и генотипа *IL-1B-511*C/*T* повышен риск развития язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, ассоциированной с *H. pylori*, а у носителей аллели *IL-1B-511*C* и генотипа *IL-1B-511 *C/*C*, напротив, снижена вероятность формирования заболевания.

Изучение генетического разнообразия твердой пшеницы *Triticum dicoccum* (Shrank) по полиморфным сайтам интеграции ретротранспозонов

Михайличенко Ольга Андреевна

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Россия, Москва, o.mikh90@gmail.com)

Пшеница вида *T. dicoccum* (Shrank) относится к группе тетраплоидных (твердых) пшениц и является древнейшей культивируемой формой этой группы. Площадь посевов *T. dicoccum* составляет 1% от общей площади посевов пшеницы, однако несмотря на это данный вид распространен и культивируется во многих странах, среди которых Индия, Турция, Эфиопия и Россия. Изучение генетического разнообразия полбы (*T. dicoccum*) представляет интерес по нескольким причинам: во-первых, этот вид используется в пищу; во-вторых, *T. dicoccum* может служить источником ряда ценных аллелей генов, контролирующих хозяйственно важные признаки (например, размера зерна или устойчивости к патогенам) в скрещиваниях с другими видами твердой пшеницы.

Высокая активность мобильных генетических элементов, составляющих до 70% нуклеотидного состава генома *T. dicoccum* является одним из источников генетического

разнообразия. Для его изучения в данной работе был применен метод SSAP (Sequence-Specific Amplification Polymorphism), основанный на анализе наличия/отсутствия инсерций ретротранспозонов.

Для данного исследования было отобрано 96 образцов тетраплоидной пшеницы *T. dicoccum* из 27 стран мира. Был проведен SSAP-анализ, включающий в себя несколько последовательных этапов: расщепление тотальной ДНК эндонуклеазой рестрикции, лигирование с двуцепочечными адаптерами, двуэтапная амплификация фрагментов и их разделение в денатурирующем полиакриламидном геле. По результатам анализа полученных электрофореграмм произведена филогенетическая реконструкция с использованием программ PHYLIP и SplitsTree. Выявлен внутривидовой полиморфизм по наличию/отсутствию инсерций ретротранспозонов *BARE-1* и *Jeli*; проведена оценка соответствия выявленных филогенетических групп занимаемым ареалам.

Данные по внутривидовому разнообразию полбы могут быть использованы на практике, при планировании скрещиваний. 23 из 96 проанализированных образцов принадлежали к различным областям России. Филогенетический анализ показал высокий уровень разнообразия российских пшениц вида *T. dicoccum*, что означает наличие потенциала для ведения селекционной работы с использованием данного вида.

Работа выполнена при финансовой поддержке подпрограммы «Генофонды и генетическое разнообразие» программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биологическое разнообразие».

Анализ Y-STR в Y-хромосоме у казахов

Молдыбаева Бахытгуль Нурлановна

(Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Факультет естественных наук, Казахстан, Астана, bahaeni.303@mail.ru)

В настоящее время актуальным представляется детальное изучение генетической структуры различных этнических групп с целью выявления их особенностей. Одним из подходов к изучению структуры генофондов современных популяций и генетической истории их формирования является анализ гаплогрупп Y- хромосомы, составляемых на основании генотипирования ее нерекombинирующей части с помощью набора ДНК-маркеров. Целью работы являлось изучение Y-STR в популяции этнических казахов.

Геномную ДНК выделяли из венозной крови с помощью набора Wizard® genomic DNA Purification Kit, Promega. Количество ДНК оценивали спектрофотометрически, а также с помощью электрофореза. Анализ фрагментов ДНК проводили с помощью набора для ПЦР-амплификации AmpFISTR®Yfiler™, представляющего собой тест-систему для исследования коротких tandemных повторов (STR), которая позволяет амплифицировать 17 локусов STR Y-хромосомы (DYS: 389I, 389II, 390, 456, 19, 385, 437, 438, 448, 391, 392, 393, 35, 458, 439, GATA H4) в одной реакции ПЦР. Флуоресцентно-меченные ампликоны разделяли в 16-капиллярном генетическом анализаторе 3130 xl Genetic Analyzer. Полученные данные обрабатывали с помощью программного обеспечения GeneMapper 4.0, статистический анализ проводили с помощью программы Arlequin 3.512, используя приложение AMOVA были высчитаны генетические расстояния Фst. Дискриминирующую способность высчитывали по формуле $D=N_{diff}/N$, где N_{diff} - это число различных генотипов популяций и N - размер популяции.

В результате анализа распределения аллелей 17 локусов нерекombинирующей части Y-хромосомы у 67 индивидов, представляющих этнических казахов из Восточно-Казахстанской области, Тарбагатайский район (с. Карасу, с. Кабанбай, с. Акжар) был определен цифровой код для каждого образца. Среди исследованных образцов было выявлено 27 (40%) различных генотипов. Нужно отметить, что у 41 человека был обнаружен одинаковый генотип. Полученные результаты сравнивали с мировой базой (<http://www.yhrd.org>) и с данными Vigo et. al. (2009) по изучению популяции казахов из Тургайской области. Сравнительный анализ не выявил одинаковых гаплотипов. Генетические расстояния между исследуемой популяцией и казахами из Тургайской области составили $0,63 \pm 0,07$.

Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю к.б.н. Е. В. Жолдыбаевой.

Полиморфизм гена *STAT3* и долголетие Мустафина Регина Шамилевна

*(Учреждение Российской Академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского
научного центра РАН, Россия, Уфа, retuscom@mail.ru)*

Одним из эффективных подходов к изучению молекулярно-генетических основ старения и долголетия является популяционный анализ распределения частот генотипов и аллелей полиморфных локусов генов в разных возрастных группах, включая стариков и долгожителей. Гены белков семейства STAT (signal transducers and activators of transcription) относят к генам-кандидатам старения и долголетия. STAT-белки, являясь членами JAK-STAT сигнального пути, вовлечены в регуляцию процессов (воспалительных, аутоиммунных, апоптических), которые играют существенную роль в старении как на клеточном, так и на организменном уровне. STAT3 способен стимулировать выработку провоспалительных цитокинов, блокировать апоптоз, регулировать баланс глюкозы в организме с помощью ингибирования активности генов, ответственных за синтез глюкозы печенью.

Цель проведенного исследования состояла в проверке гипотезы о возможной ассоциации полиморфизма гена *STAT3* со старением и долголетием. В работе использованы образцы ДНК 1612 человек в возрасте 14-108 лет, жителей Республики Башкортостан, татар по этнической принадлежности. ДНК выделяли из аликвот цельной венозной крови методом фенольно-хлороформной экстракции; типирование по полиморфному локусу 19006G>C (rs2293152) гена *STAT3* проводили с использованием метода полимеразной цепной реакции; статистический анализ результатов исследования выполняли с помощью пакета программ SPSS (V. 13.0).

В результате проведенного исследования охарактеризовано распределение частот аллелей и генотипов по полиморфному локусу 19006G>C гена *STAT3* в популяции татар; частоты генотипов *G/*G, *G/*C и *C/*C составили 43.1%, 49.4% и 7.5%, аллелей *G и *C – 67.8 и 32.2% соответственно. С помощью логистического регрессионного анализа выявлена ассоциация генотипа *G/*C с возрастом в диапазоне 75-108 лет (OR=0.97 P=0.032), которая указывает на снижение шансов обнаружения этого генотипа с увеличением возраста в указанном возрастном диапазоне. Сравнение по частотам генотипов лиц старческого возраста (75–89 лет) и долгожителей (90–108 лет) показало, что среди долгожителей частота генотипа *G/*C понижена (53.2% и 41.8%, p<0.01). Полученные данные подтверждают важную роль полиморфизма гена *STAT3* в достижении возраста долголетия.

Исследования поддержаны грантом РФФИ (№10-04-01614-а)

Конвертирование RAPD маркера гена устойчивости к киле у капусты пекинской (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis* (Lour.) Rupr.) в SCAR маркер

Нгуен Мин Ли

*(Российский государственный аграрный университет им. К.А. Тимирязева, Россия,
Москва, minhlyvn_21@yahoo.com)*

С целью повышения эффективности и ускорения процесса селекции на устойчивость к киле у капусты пекинской, на Селекционной станции и.м. Тимофеева проводится работа по поиску и разработке молекулярных маркеров генов устойчивости к киле капустных культур. Был разработан один RAPD маркер – 394RAPD, сцепленный с геном устойчивости к киле у капусты пекинской в популяции BC1, полученной от скрещивания устойчивой линии 20-2сс1 и восприимчивой линии ES-1. Частота рекомбинации между 394RAPD и геном устойчивости составляет 2.9сМ.

Для конвертирования 394RAPD маркера в SCAR маркер полиморфный фрагмент был вырезан из агарозного геля, клонирован и секвенирован. На основе известной последовательности фрагмента разработаны 4 праймер - комбинации, одна из которых после оптимизации условий амплификации была выделена в качестве SCAR маркера,

обозначенного tau_cBrCR400. При амплификации с маркером tau_cBrCR400 были амплифицированы два фрагмента, и по одному фрагменту длиной 400 п.н. дифференцировались устойчивые и восприимчивые растения. Также было установлено, что расщепление растений популяции BC1 по маркеру полностью соответствуют первоначальному 394RAPD маркеру, исходя из этого была подтверждена эффективность данного маркера. Следует обратить внимание, что маркер tau_cBrCR400 имеет доминантный характер в комбинации 20-2сс1 x ES-1, однако, в комбинации ECD04 (репа) x Кит1-3с15 (капуста пекинская) маркер проявляет кодоминантный характер.

В дальнейшем исследовании было проведен анализ разработанных маркеров в различных устойчивых к киле линиях капусты пекинской коллекции Селекционной станции и.м. Тимофеева. Показано, что из двадцати двух устойчивых линий к киле фрагмент, сцепленный с геном устойчивости, амплифицирован у семи линий. Такой результат можно объяснить тем, что в коллекции линий устойчивость к киле определяются несколькими генами устойчивости к киле, а разработанный маркер сцеплен только с одним из них. Таким образом, разработанный маркер имеет потенциал для применения в процессе селекции капусты пекинской на устойчивость к киле с наличием данного гена устойчивости и поиска маркеров других генов устойчивости.

**Создание линий мягкой пшеницы с интрогрессиями генетического материала *Aegilops speltoides* Tausch с использованием молекулярно-цитологических подходов и оценка их устойчивости к бурой ржавчине (*Puccinia triticina* Erikss)
Суслкина Надежда Владимировна**

(Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, pnv11@bionet.nsc.ru)

Дикорастущие сородичи мягкой пшеницы и вид *Aegilops speltoides* Tausch, в частности, являются источниками генов устойчивости к бурой ржавчине (*Lr*). На сегодняшний день известно более шестидесяти *Lr*-генов, пять из них: *Lr28*, *Lr35*, *Lr36*, *Lr47* и *Lr51*, локализованные соответственно на хромосомах 4A, 2B, 6B, 7A и 1B мягкой пшеницы, получены от *Ae. speltoides*. Работы по выявлению новых генов устойчивости остаются актуальными, поскольку появление новых рас патогена происходит значительно быстрее, чем создаются устойчивые сорта.

В качестве исходного материала использовались растения двух интрогрессивных линий, устойчивых к бурой ржавчине: 73/00i и 81/00i, полученные от скрещивания *Triticum aestivum* L. сорта Родина (2n = 42) и *Ae. speltoides* (2n = 14) К-389, И.Ф. Лапочкиной (НИИСХ ЦРНЗ, Немчиновка).

По результатам флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) с использованием зондов pSc119.2 и Spelt1 и микросателлитного анализа установлено, что линия 73/00i имеет следующие интрогрессии: T1S5-1BS-1BL, T5BS-5BL-5SL и T6BS-6BL-6SL. Линия 81/00i характеризуется транслокацией T1RS-1BL-1BS, делецией в плече S хромосомы 6B и замещением хромосомы 7D на хромосому 7S *Ae. speltoides*.

Отбор линий с единичными интрогрессиями от *Ae. speltoides* проводился при помощи FISH из популяции растений, полученных от следующих комбинаций скрещивания: 73/00i × Родина, 81/00i × Родина (BC₁F₂) и 73/00i × Новосибирская 29 (F₃). Отобранные линии оценивались на устойчивость в полевых условиях по бальной шкале Майнса и Джексона.

Иммунными и высокоустойчивыми оказались линии с интрогрессией T5BS-5BL-5SL – 0 баллов, средней устойчивостью обладали линии с интрогрессией T6BS-6BL-6SL – 2 балла (73/00i × Родина; 73/00i × Новосибирская 29). Среди линий, полученных на основе комбинации скрещивания 81/00i × Родина, высокой устойчивостью обладали линии с замещением 7S(7D). Контрольные сорта мягкой пшеницы Родина и Новосибирская 29 оказались сильновосприимчивыми – 4 балла.

Таким образом, установлено, что основной вклад в устойчивость к бурой ржавчине линий 73/00i и 81/00i определяется транслокацией T5BS-5BL-5SL и замещением 7S(7D).

Филогенетический анализ кеты *Oncorhynchus keta* W. Дальнего Востока по маркерам митохондриальной ДНК
Тетерина Анастасия Алексеевна

(Лаборатория генетических проблем идентификации Института общей генетики РАН, Россия, Москва, tetarina.anastasia@gmail.com)

Oncorhynchus keta (Walbaum, 1792) – второй по численности вид тихоокеанских лососей после горбуши на азиатской части ареала. Для решения теоретических проблем популяционной организации вида и прикладных задач генетической идентификации и сертификации стад лососей важно знать наследственное своеобразие популяций. Реконструкция генных генеалогий тихоокеанских лососей представляет большой интерес, поскольку этот подход позволяет раскрыть внутривидовую генетическую подразделенность, являющуюся результатом исторических событий, предшествующих формированию современной популяционной структуры. Всего была исследована 21 выборка с Камчатки, о. Сахалин, о. Кунашир и о. Итуруп. Определение гаплотипов проводилось с помощью метода CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) по двум фрагментам митохондриальной ДНК: ND3\ND4\ND4 и COI\COIII\A8. На основе полученных данных оценивалось нуклеотидное (π) и гаплотипическое (h) разнообразие по методу Нея, с помощью генетических расстояний строилось бескорневое дерево по методу Neighbour-Joining, а также медианные филогенетические сети. По результатам исследования показано, что наибольшее гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие наблюдается на о. Итуруп ($h=0.94$). Однако, популяции Курильских островов менее подразделены, чем популяции о. Сахалин и Камчатки. Также было показано, что в заводских популяциях о. Сахалин наименьшее гаплотипическое разнообразие ($h=0.84$) и высокая подразделенность популяций по сравнению со всем азиатским ареалом кеты, некоторые популяции кеты Сахалина можно назвать изолированными. Звездообразная топология дерева нуклеотидной дивергенции указывает на экспоненциальное увеличение численности кеты в недавнем прошлом. Филогенетическая сеть между всеми исследуемыми популяциями показала, что в данном регионе изначально существовало несколько предковых форм гаплотипов, при этом становится очевидным, что эти предковые формы изначально сформировались в районе современных Курильских островов. Полученные результаты согласуются с теорией о связи современной популяционной структуры лососевых рыб Северной Пацифики со сменой периодов оледенений в плейстоцене и резких колебаний температур.

Работа поддержана грантами Программ Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и «Биологическое разнообразие». Выражаю искреннюю благодарность научным руководителям Животовскому Л.А. и Малининой Т.В.

Исследование генофонда мтДНК населения Барабинской лесостепи эпохи неолита и раннего металла (VI – IV тысячелетие до н.э.)

Трапезов Ростислав Олегович

(ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск, rtrapezov@ya.ru)

Данная работа посвящена исследованию структуры генофонда мтДНК представителей населения эпохи неолита и раннего металла (усть-тартасская культура), существовавшего на территории лесостепной полосы Западной Сибири (Барабинская лесостепь) в VI – IV тыс. до н. э. Палеоантропологическая коллекция, исследуемая в работе, включает останки более ста индивидов хорошей макроскопической сохранности и является наиболее ранним материалом для исследуемого региона, пригодным для молекулярно-генетического анализа. Исследование серии образцов мтДНК от представителей ранних групп населения представляется информативным в отношении реконструкции начальных этапов этногенетических процессов, протекавших в лесостепном поясе Западной Сибири. Все работы по анализу древней ДНК проводились в специально оборудованных лабораторных помещениях с соблюдением общепринятых систем критериев достоверности результатов.

Определены последовательности участка ГВС1 контрольного района мтДНК у 4 представителей неолитического и 30 усть-тартасского населения. Результаты генотипирования свидетельствуют, что между исследуемыми группами наблюдается

генетическая преемственность. Уже с периода неолита и раннего металла генофонд мтДНК населения региона характеризуется смешанной структурой: в нем присутствуют как западно-евразийские (U2e, U5a, U4), так и восточно-евразийские (A, D, C, Z) гаплогруппы мтДНК. Состав западно-евразийского компонента генофонда сближает исследуемое население Барабы с популяциями охотников-собирателей Центральной и Восточной Европы эпохи неолита и ранней бронзы. Состав восточно-евразийского компонента отражает генетические контакты исследуемой группы с населением регионов Восточной и Юго-Восточной Сибири. Выдвинуто предположение об автохтонном происхождении субкластера гаплогруппы А с общим мотивом 16227AC-16290-16311-16319 на территории лесостепной и/или южно-таежной полосы Западной Сибири и Волго-Уральского региона.

Автор выражает глубокую признательность научному руководителю к.б.н. Пилипенко А.С.

Изучение паттерна метилирования ДНК регуляторных областей генов *Oct4* и *Nanog* полевки *Microtus rossiaemeridionalis* **Филатова Анна Владимировна**

(Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, anu89@mail.ru)

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) являются моделью для изучения *in vitro* молекулярных основ плюрипотентности, репрограммирования клеток и процессов, проходящих в раннем эмбриогенезе. Одним из подходов к получению ИПСК является репрограммирование с помощью сверхэкспрессии определенных транскрипционных факторов. При репрограммировании происходит активация внутриклеточных систем поддержания плюрипотентности, в том числе активируется экспрессия основных генов плюрипотентности – *Oct4* и *Nanog*. Транскрипция этих генов регулируется на эпигенетическом уровне. Важной задачей было определить долю участия метилирования 5'-областей в регуляции этих генов.

Цель данной работы - изучить метилирование регуляторных областей генов *Oct4* и *Nanog* полевки в трофобластных стволовых (TS) клетках, клетках экстрэмбриональной энтодермы (XEN) и эмбриональных фибробластах. Выбор районов исследования производился по двум критериям: соответствие важным регуляторным районам, гомологичным таковым у мыши, и высокая концентрация CpG динуклеотидов. Для сравнения последовательностей регуляторных областей полевки и мыши использовался метод множественного выравнивания. Для гена *Oct4* было выбрано два участка исследования: первый находится в области дистального энхансера (район ДЭ), а второй соответствует минимальному промотору (район МП). Для гена *Nanog* также было выбрано два участка: первый перекрывает область минимального промотора и 5'-область первого экзона (район МППЭ), а второй расположен в 3'-области первого экзона и 5'-области первого интрона (район ПЭПИ). Паттерн метилирования изучали с помощью бисульфитного секвенирования.

Было обнаружено, что район ДЭ гена *Oct4* гипометилирован в клетках линии XEN и наиболее метилирован в эмбриональных фибробластах из всех исследуемых линий клеток, в то время как район МП гена *Oct4* гиперметилирован в XEN, а в остальных линиях имеет степень метилирования примерно 50%. Степень метилирования района МППЭ гена *Nanog* сходна во всех линиях клеток, а район ПЭПИ гена *Nanog* гиперметилирован в клетках линии XEN и гипометилирован в эмбриональных фибробластах. Таким образом, было показано, что метилирование данных участков генов *Oct4* и *Nanog* является дифференциальным между линиями клеток TS, XEN и эмбриональных фибробластов.

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

Изучение роли гена *fasciata 4* в контроле развития побега *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Альберт Евгений Владимирович

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова Москва, arabidopsis2004@mail.ru)

Мутант *fasciata 4 (fas4)* из генетической коллекции *Arabidopsis thaliana* (МГУ, линия М-21) характеризуется изменением структуры побега и эктопической пролиферацией апикальной меристемы (АМ) побега, в сравнении с диким типом (раса Dijon-M, K-1). Мутация *fas4* наследуется рецессивно. Проверка *fas 4* на аллелизм с мутациями *fas1-1* и *clv1*, *clv2*, *clv3* из коллекции ABRC, вызывающими схожие изменения, показала, что мутация *fas 4* затрагивает другой ген. Как и у мутантов *fas1-1* и *clv1*, *clv2*, *clv3*, у мутанта *fas4* выявлено увеличение пролиферативной активности АМ побега и увеличение её размеров, что приводит к развитию фасцированного стебля. Степень фасцированности цветоноса сильно варьирует в пределах линии. У *fas4* есть и характерные особенности, отличающие его от ранее описанных мутантов. По данным сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) АМ мутанта *fas4* имеет несколько конусов роста вследствие расщепления крупной АМ. Для мутанта *fas4* характерна ромбовидная форма листьев (листья дикого типа и мутантов *fas1-1* и *clv1*, *clv2*, *clv3* имеют округлую форму), а также нарушения филлотаксиса вследствие образования многих осей в составе главной оси стебля.

Двойные мутанты, полученные в скрещивании линий *fas4* с линиями *clv2*, *clv3* демонстрировали аддитивный фенотип: сильная фасциация стебля, нарушения филлотаксиса, ромбовидные листья стебля и розетки, увеличение размеров АМ и числа органов стебля. Следовательно, *FAS4* в растениях дикого типа ограничивает пролиферативную активность АМ побега, независимо от генов *CLV1*, *CLV2* и *CLV3*, ограничивающих уровень транскрипции гена *WUS*, поддерживающего пул стволовых клеток АМ побега.

Нами проведен анализ экспрессии генов, поддерживающих пул стволовых клеток в АМ побега, в АМ мутанта *fas4* методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Выявлено 2-кратное увеличение уровня экспрессии гена *WUS* относительно дикого типа. Уровень экспрессии гена *KNAT1* в АМ мутанта *fas4* повышался в 6 раз. По-видимому, в отличие от генов *CLV* главной мишенью гена *FAS4* является не *WUS*, а ген *KNAT1*.

Работа поддержана РФФИ (проект № 10_04_00859_а) и федеральной целевой программой "Ведущие научные школы" (проект №НШ_3293.2010.4).

Автор выражает свою глубокую благодарность Кавай-оол У.Н. Тувимский государственный университет.

Биоразнообразие сои генофонда института генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз

Баротова Нигора Рамазоновна

(Институт генетики и экспериментальной биологии растений Академия наук Республики Узбекистана, Узбекистан, Ташкент, nigosha80@mail.ru, inst@gen.org.uz)

Соя относится к семейству бобовых Fabaceae рода *Glycine* L, которая объединяет десятки видов, с полиплоидным рядом $2n=20; 40; 80$. В культуру введен один вид *Glycine hispida* Max., выращиваемый на всех континентах земного шара.

В институте собрана ботаническая коллекция 103 сортообразцов, 40 линий генетической коллекции, характерная к различным экологическим зонам мира. В процессе изучения разнообразия по типу роста в основном они делится на две группы: индетерминантные и детерминантные.

Для сравнительного феногенетического анализа роста стебля и их элементов использовали сортообразцы с детерминантным типом роста сорта сои Генетик-1 (института Генетика и ЭБР), Armour, Evans (ООО "Север" Беларусь), индетерминантный сорт - Дуслик (Уз НИИ риса).

Опыты проводили на экспериментальном участке института в поселке «Юкори -юз» Кибрайского района, Ташкентской области, в трехкратных повторностях. Схема посева - 60x15x2. Полученные данные обрабатывали по Доспехову.

Сорта по высоте растений располагались в разных популяционных группах со средними значениями - Генетик-1 47,59±0,44, Armour 64,55±0,62, Evans 76,56±0,58, Орзу 78,30±0,77 и Дуслик 95,4±1,02.

По количеству междоузлий стебля максимальное значение имеет также сорта Дуслик, Орзу, Armour и Evans имеют промежуточное значение между сортами Генетик-и Дуслик.

Феногенетический анализ показал, что нами изученные сорта по типу роста фенотипически группируются на две группы: детерминантные Генетик-1, Armour, Evans и Орзу; индетерминантный - Дуслик. Полученные данные позволяют группировать детерминантные на две генетические группы - Генетик-1 ($d_1d_1d_2d_2$), а сорта Armour, Evans и Орзу ($d_1d_1D_2D_2$), индетерминантного Дуслик ($D_1D_1d_2d_2$). По количеству междоузлий наибольший показатель у сорта Дуслик, это очевидно эффект гена D_1 , который в доминантном гомо - и гетерозиготном состоянии способствует апекальному доминированию, что выражается ростом стебля до конца вегетационного периода.

Изучение пептидных носителей, модифицированных лигандом рецептора CXCR4, как средств направленной доставки генных конструкций

Богачева Мария Сергеевна¹, Егорова А.А.², Шубина А.Н.¹, Киселев А.В.²

¹Санкт-Петербургский Государственный Университет, Россия, Санкт-Петербург,

²НИИ акушерства и гинекологии им. Отта, Россия, Санкт-Петербург)

Проблема эффективной доставки генетических конструкций в ткани и клетки организма является актуальной для генной терапии. Перспективным направлением в разработке средств доставки является создание невирусных носителей, обеспечивающих тканеспецифичный перенос генных конструкций. С этой целью возможна модификация носителей лигандом к определенному рецептору. CXCR4 - это хемокиновый рецептор фактора миграции стволовых клеток SDF-1, который представлен на поверхности некоторых типов стволовых и опухолевых клеток. Цель исследования - изучение пептидных носителей, модифицированных лигандом хемокинового рецептора CXCR4, как средств направленной доставки генных конструкций в клетки млекопитающих. В работе исследованы следующие соединения: цистеин-богатый аргинин-содержащий носитель CLPR6 (CHRRRRRRHC), его аналог, модифицированный лигандом к рецептору CXCR4 - L1 (KPVLSYRSPSRFFESH-Ahx-Ahx-CHRRRRRRHC) и две комбинации пептидов L1 и CLPR6: носитель L2 содержит 50 mol% пептида L1 и носитель L3 - 10 mol% пептида L1.

Способность пептидов формировать комплексы с ДНК была показана с помощью ДНК-ретардации, тестов на вытеснение бромистого этидия и красителя SybrGreen. Для изучения стабильности плазмидной ДНК в составе комплексов использовали тест на защиту ДНК от ДНКазы I. Трансфекционная активность комплексов изучена на трёх линиях клеток с разным содержанием рецептора CXCR4 на поверхности: HeLa, A172 (CXCR4+) и CHO (CXCR4-). *lacZ* использовался как репортерный ген.

Показано, что модификация носителя лигандом приводит к улучшению его ДНК-компактизирующих свойств. Исследованные пептиды способны защищать ДНК от деградации эндонуклеазами в комплексах ДНК/носитель. В экспериментах по трансфекции показано, что модификация носителя лигандом рецептора CXCR4 увеличивает трансфекционную активность комплекса ДНК/носитель на CXCR4(+)-клетках HeLa и A172. В ряде экспериментов эффективность трансфекции клеток CXCR4(+) комплексами ДНК с лиганд-содержащими пептидами в 10 раз превышала эффективность комплексов ДНК/ПЭИ. На CXCR4(-) клетках CHO эффективность комплексов ДНК с немодифицированным и модифицированными соединениями достоверно не отличалась.

Работа поддержана грантом РФФИ 10-04-01236-а.

Степень влияния гена MC4R на фенотип организма

Гетманцева Любовь Владимировна

(Донской государственный аграрный университет, Россия, пос. Персиановский, ilonaluba@mail.ru)

Молекулярно-генетические методы анализа, основанные на полиморфной природе ДНК, позволяют определять и картировать целый ряд генов, влияющих на степень фенотипической выраженности того или иного признака.

Формирование характерных черт признака опосредуется биохимическими особенностями молекулярных событий, запускаемых геном. Генетическая предрасположенность определяет вероятность проявления, но фенотипический характер регулируется системой генотип-среда.

Таким образом, главным фактором является норма (диапазон) реакции, для чего необходимо исследовать природу индивидуальных различий, структуру и механизмы, формирующиеся в результате экспрессии определенного гена.

Ген MC4R (меланокортиновый рецептор-4) был картирован у человека и его молекулярно-биологические особенности проявляются в предрасположенности к ожирению.

Рассматривая генетическую вариативность (полиформизм гена MC4R) сопряженную со средовой вариативностью, мы получаем коэффициент весового участия гена в фенотипическом проявлении признака. Для чего предполагается использовать многофакторную модель, рассматривающую в качестве модельных животных свиней. Ген MC4R у свиней локализован на хромосоме 1 (SSC1) q22-q27. Его полиморфизм обусловлен однонуклеотидной заменой в позиции 298, G на A, что приводит к образованию различных аллелей и кодируемых ими аминокислот. Аллель A (GAU) кодирует Asp(D), аллель B (AAU) - Asp (N). Мутация в гене MC4R затрагивает высоко консервативный участок MC4R-рецептора, расположенный в районе 7 домена, и ответственного за связывание с лигандами. В результате чего происходит блокировка действия лептина, что приводит к нарушению липидного обмена и повышению секреции лептина жировой тканью.

У свиней фенотипически это связано с повышением среднесуточного прироста, скороспелости и жирности (опосредуется влиянием аллели B). В результате селекции на уменьшение толщины шпика, в породах закрепилась аллель A. Путем анализа индивидуальных породных особенностей свиней, мы получаем коэффициент весового участия гена MC4R в процессе ожирения.

Анализ структурных особенностей, формирования и наследования опушения листа мягкой пшеницы с помощью компьютерных методов фенотипирования

Дорошков Алексей Владимирович, Генаев М. А.

(Институт цитологии и генетики сибирского отделения российской академии наук, Россия, Новосибирск, ad@bionet.nsc.ru)

Одним из важных фенотипических признаков растений является опушение листа. Опушение листа пшеницы имеет большое значение, влияя на микроклимат вблизи поверхности листа, а также защищая от ряда вредителей. Показано, что сильно опушенные сорта пшеницы значительно более устойчивы к поражению жуком-листоедом *Oulema melanopus* L., а также шведской мухой *Mayetiola destructor*. До недавнего времени морфологические характеристики опушения листа пшеницы оценивались на ощупь или визуальным подсчетом под микроскопом, что являлось неэффективным и не позволяло получать его точные характеристики. Ранее нами был предложен компьютерный метод для решения задач анализа морфологии опушения листа пшеницы при помощи алгоритмов обработки изображений и разработана программа LHDetect, интегрированная с базой данных WheatPGE (www.wheatdb.org). Высокая информативность получаемых данных позволяет описывать морфотип опушения листа с необходимой точностью.

С использованием компьютерной обработки изображений была исследована морфология опушения листа сортов пшеницы Саратовская 29, Голубка а также интрогрессивной линии 102/00¹ сорта Родина с геном контроля опушения от *Aegilops speltoides*. Были выявлены и детально описаны различия морфологии опушения листа.

Проведено исследование генетического контроля опушения двух сортов, Голубка и Саратовская 29, имеющих схожий тип опушения. Показано, что при скрещивании этих сортов с сортом Родина у сорта Голубка наблюдается моногенный характер наследования, для сорта Саратовская 29 с более густым опушением - дигенный. У линии 102/00¹ и сорта Голубка обнаружена положительная корреляция между количеством трихом и их средней длиной. На примере сорта Голубка исследовано влияние условий внешней среды на формирование опушения. Показано, что в полевых условиях растения этого сорта формируют большее количество трихом, но меньшей длины. Изменение соотношения трихом в сторону уменьшения средней длины может быть следствием падения тургорного давления в условиях засухи. Одновременное увеличение числа трихом может иметь адаптивное значение: в более суровых условиях необходимо большее количество трихом для формирования микроклиматического диффузионного слоя вблизи поверхности листа.

**Анализ дискриминационной способности ITS и 26S рДНК для дрожжей
Кирибаева Асель Калиаскаровна**

*(Республиканская коллекция микроорганизмов, Республика Казахстан, Астана,
asel_january@mail.ru)*

В настоящее время для идентификации дрожжей широко используется генетический метод, основанный на секвенировании генов, кодирующих РНК субъединицы (18S, 5.8S, 26S) и межгенные спейсерные регионы ITS. Однако, дискриминационная способность при секвенировании вышеназванных генов различна. Поэтому нами для сравнения дискриминационной способности был использован анализ межгенного спейсерного региона ITS и большой субъединицы 26S.

Выделение ДНК дрожжей проводили методом щелочного лизиса. Анализ осуществляли с помощью ПЦР с последующим секвенированием.

В результате секвенирования ITS региона и гена большой субъединицы 26S были идентифицированы 35 культур с вероятностью 99-100%. Сравнительный анализ двух генов показал не полное соответствие полученных результатов. Так, видовая принадлежность 33 из 35 культур по ITS региону и гену большой субъединицы 26S совпала. По двум культурам было показано различие. Дополнительное проведение идентификации на основе биохимических признаков показало полное совпадение с данными, полученными при анализе последовательностей гена большой субъединицы 26S.

Таким образом, в ходе проведенных работ нами выявлено, что наибольшей дискриминационной способностью для дрожжей обладает метод, основанный на секвенировании гена большой субъединицы 26S РНК.

Автор выражает благодарность к.м.н. Кушугуловой А.Р., к.б.н. Кожяхметову С.С. за помощь в проведении работы.

**Цитогенетическое картирование генов аллиазы и слезоточения фактора синтеза
с помощью многоцветной туr-FISH на хромосомах *Allium cepa* L.**

Киров Илья Владимирович

*(Российский государственный аграрный университет имени К.А. Тимирязева,
Агрономический факультет, Россия, Москва, kirovez@gmail.com)*

Характерной особенностью луковых, *Alliaceae*, является их специфические аромат и вкусовые качества, что и объясняет широкое распространение и использование представителей этого рода. *A. cepa*, кроме выраженных ароматических и вкусовых свойств, обладает способностью индуцировать слезоточение. Последние исследования показали, что две эти особенности *A. cepa* – результат одного метаболического пути, который контролируется двумя генами – аллиазой и слезоточения фактор синтеза (lachrymatory factor synthase, LFS).

Используя нуклеотидные последовательности генов аллиазы и LFS из базы данных NCBI, были подобраны праймеры и получен ПЦР продукт, который был клонирован в вектор pCR2.1-ТОРО. Скрининг клонов показал наличие нескольких клонов с ожидаемым размером вставки (550 п.н. для LFS и 1100 п.н. для аллиазы). Последующий BLAST-анализ

изучаемых последовательностей из отобранных клонов подтвердил, что они являются фрагментами генов алликазы и LFS.

Было проведено цитогенетическое картирование данных генов на хромосомах лука репчатого *A. sepa* с использованием многоцветной флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH), основанной на последовательной детекции на хромосомах сайтов гибридизации проб с разными метками с помощью фермента пероксидазы и тирамид (Tyramide-FISH), конъюгированными с различными флуорохромами.

Показана локализация гена алликазы в дистальной части хромосомы 4, а гена LFS в проксимальной части хромосомы 5. Аналогичные данные были получены ранее при картировании ВАС клона, несущего ген LFS, с помощью стандартной FISH. Результаты подтверждают, что tyramide-FISH является ценным инструментом для детектирования небольших фрагментов ДНК на растительной хромосоме, что поможет более эффективно проводить картирование отдельных генов и интегрирование физических и генетических карт.

Молекулярно-цитогенетическое изучение пшенично-пырейных гибридов устойчивых к листовой ржавчине.

Коротаяева Алина Александровна, Крутин П.Ю.

(Российский Государственный Аграрный Университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Центр молекулярной биотехнологии, Россия, Москва, alina.korotaeva@gmail.com)

Листовая (бурая) ржавчина – заболевание пшеницы, причиняющее серьёзный ущерб сельскому хозяйству, особенно южных регионов России, существенно снижая урожай до 50%. На данный момент в мире найдено более 50 генов устойчивости к листовой ржавчине. Многие гены обеспечивающие устойчивость у мягкой пшенице были привнесены в нее из дикорастущих сородичей. Большим потенциалом в качестве источника новых *Lr*-генов обладает коллекция октоплоидных пшенично-пырейных гибридов (ППГ, 2n=56). ППГ включают в свой геном помимо 42 пшеничных 14 пырейных хромосом (Отдел отдалённой гибридизации ГБС РАН имени Н.В. Цицина). Однако до настоящего времени молекулярно-цитогенетическая характеристика данной коллекции не проводилась. Нами была проведена характеристика перспективных образцов ППГ с помощью метода дифференциальной геномной гибридизации *in situ*. Благодаря этому было произведено кариотипирование пырейной составляющей генома ППГ и предложены цитогенетические маркеры для пырейных хромосом. Было выявлено 4 типа пар пырейных хромосом присутствующих у различных образцов ППГ. 29 образцов ППГ изучены на устойчивость к 10 тест-изолятам бурой ржавчины: 16 образцов были устойчивы ко всем изолятам, 9 образцов показали восприимчивость к 1-5 изолятам, 4 образца были восприимчивы к более чем 5 изолятам. С помощью ПЦР-анализа с использованием праймеров рекомендованных для детекции генов *Lr*, нами были выявлены амплифицируемые последовательности характерные в основном для устойчивых линий. В дальнейшем данные последовательности были просеквенированы. Анализ в системе BLAST не показал полной гомологии ни к одной из известных последовательностей, однако выявил относительно высокую гомологию к последовательности гена-кандидата *Lr19*, который был привнесён в мягкую пшеницу из пырея понтийского. Таким образом, выявленную нами последовательность можно отнести к гену-кандидату, полученному из пырея среднего, обеспечивающему устойчивость к бурой ржавчине. Использование ПЦР-маркирования на основе полученного нами сиквенса в сочетании с цитогенетическими маркерами, полученными с помощью дифференциального GISH, может целенаправленно переносить признак устойчивости к бурой ржавчине в линии мягкой пшеницы.

Определение лекарственной устойчивости к противовирусным препаратам вируса гепатита В, циркулирующего в городе Астана

Кравченко Алена Павловна, Шевицов А.Б., Мухамедьяров Д.А.
(Национальный центр биотехнологии, Республика Казахстан, Астана
alena.2989@mail.ru)

Хронический гепатит В является серьезной глобальной проблемой общественного здравоохранения. В настоящее время для лечения хронического гепатита В наряду с интерфероном применяется ряд нуклеоз(т)идных препаратов. Серьезной проблемой применения нуклеоз(т)идных аналогов является развитие к ним резистентности вследствие мутаций в полимеразном гене. Определение лекарственной устойчивости обеспечивает правильную стратегию лечения, профилактику резистентности и своевременную модификацию схемы лечения с учетом перекрестной резистентности.

Нашей главной целью являлось определение лекарственной устойчивости вируса гепатита В методом определения нуклеотидной последовательности полимеразного гена. Амплификацию фрагмента полимеразного гена проводили по методике, предложенной D. Vincenti (2009), с последующим секвенированием, что также нам позволило изучить распределение генотипов вируса гепатита В в г.Астана.

В исследование было включено 37 образцов ДНК с титров вируса гепатита В не ниже $2 \cdot 10^3$ МЕ/мл. Образцы ДНК были предоставлены СЭС г.Астана. Филогенетический анализ с референтными последовательностями вируса гепатита В различных субтипов позволил классифицировать наши образцы как: генотип D1- 23 образца, генотип D2-5 образцов, D3-6 образцов, а также к генотипу С1-1 образец и С2- 2 образца. В ходе анализа полимеразного гена 37 образцов, в двух образцах, в которых установлен генотип D2, была обнаружена rtV214A мутация, характерная для лекарственной устойчивости к адефовиру.

В заключение, на территории г. Астана преобладает генотип D вируса гепатита В. В исследуемых образцах выявлена всего одна мутация rtV214A, обуславливающая устойчивость к адефовиру, что возможно связано с ограниченностью выборки. Для лучшего понимания циркуляции генотипов и генотипической резистентности вируса гепатита В на территории Республики Казахстан необходимы дальнейшие исследования с большим количеством образцов и сведений о применяемой терапии.

Авторы выражают благодарность сотрудникам вирусологической лаборатории СЭС г.Астана за оказание помощи в исследовании.

Распределение частоты аллелей гена HLA-DQB1 у пациентов с легочным туберкулезом в казахской популяции

Куранов Александр Борисович, Исакова А.Н., Кожамкулов У.А.
(Национальный центр биотехнологии, Республика Казахстан, Астана,
iskander.kuranov@gmail.com)

Комплекс гистосовместимости человека (HLA) играет важную роль в модуляции иммунного ответа. Связь между HLA и легочным туберкулезом (ЛТБ) была рассмотрена в нескольких популяциях, но результаты были противоречивыми. В настоящей работе проводилось сравнение частот аллелей гена HLA-DQB1 в казахской популяции, между пациентами с ЛТБ и контрольной группой здоровых людей.

HLA-генотипирование образцов ДНК проводили SBT-методом в модификации В. Норре и А. Salama. Идентификацию аллелей проводили используя международную базу данных EMBL-EBI (<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/>) и программу SBT-INTERFACE (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gv/mhc/sbt.cgi?cmd=main>).

В исследование было включено 53 пациента с ЛТБ (средний возраст 32,7 лет, 67,9% мужчин и 32,1% женщин) и 113 клинически здоровых участников. В исследуемых группах выявлены различия между частотами определенных аллелей по локусу HLA-DQB1; так, например, частота аллеля DQB1*02:01 составила 21,69% среди больных туберкулезом и 7,97% в выборке здоровых людей ($P < 0.05$). Частота DQB1*05:03 составила 8,49% среди больных туберкулезом и 2,65% в выборке здоровых людей ($P < 0.05$), аллель DQB1*06:01 имел частоту 13,21% и 3,10% соответственно ($P < 0.05$).

При сравнении полученных данных с другими популяциями, было выявлено, что у индийцев, аллель DQB1*06:01 имеет положительную ассоциацию с чувствительностью к ЛТБ, негативная ассоциация (резистентность) идентифицирована для аллеля DQB1 *05:01. В корейской популяции, частота аллелей DQB1*06:01, также достоверно выше у пациентов с ЛТБ.

В заключение, распределение DQB1 аллелей в казахской популяции соответствует некоторым генетическим характеристикам других популяций, но тем не менее, выводы, которые можно извлечь из этих данных, являются первичными, и необходимы дальнейшие исследования на выборках больших размеров для лучшего понимания связи между HLA и развитием ЛТБ среди представителей казахской популяции.

Авторы выражают благодарность Момыналиеву Кувату Темиргалиевичу, (НИИ Физико-химической медицины ФМБА) за плодотворное обсуждение результатов.

Анализ кариотипа и его использование в диагностике бесплодия

Ляшенко Анна Александровна

(Костромской государственной университет имени Н. А. Некрасова, Факультет естествознания, Россия, Кострома, analyashen@yandex.ru)

По неофициальной статистике на сегодняшний день 15% мужчин и женщин репродуктивного возраста испытывают затруднения с естественным зачатием ребенка. Но сегодня мало говорится о том, что мужское бесплодие, женское бесплодие, самопроизвольные выкидыши и многие другие патологические состояния могут быть обусловлены поломками генома. Основываясь на результатах оценки кариотипов 188 пациентов, мы выделили ряд генетически обусловленных синдромов, влекущих за собой факт бесплодия. За 2008-2009 года 12% обратившихся являлись носителями аномального кариотипа.

Наиболее распространенным заболеванием является синдром Дауна (45%). Дополнительная 21 хромосома приводит к блокированию гаметогенеза и, в конечном счете, ведет к бесплодию. Реже встречаются, но также ведут к бесплодию такие заболевания как синдром Шерешевского-Тернера 45, XO у женщин (18%) и синдром Клайнфельтера 47, XXУ у мужчин (9%). Анеуплоидный набор хромосом блокирует мейоз половых клеток, что в свою очередь выражается как первичная аменорея у женщин и азооспермия у мужчин.

Выявлены кариотипы, содержащие хромосомные транслокации (14%). Они влекут за собой анеуплоидии различной этиологии. Внутриутробная элиминация несбалансированных по хромосомному материалу гамет, зигот или эмбрионов приводит к спонтанному абортуре или мертворождению.

Относительно редко встречается синдром трипло-Х (5%). Кариотип 47, XXX позволяет иметь нормальную плодовитость, однако анеуплоидия повышает риск спонтанных абортов.

В 4 % случаев выявлено носительство «маркерных» хромосом. Они не только являются причиной нарушений гаметогенеза и раннего эмбриогенеза, но и несут аномальную неидентифицируемую генетическую информацию.

С такой же частотой встречается синдром де ля Шапелля (4%). Наличие на одной из Х-хромосом гена SRY определяет мужской фенотип. Отсутствие гена AZF (фактор мужской фертильности) определяет бесплодие.

Фенотипическое проявление генотипических проблем легко принять за нативную причину бесплодия. Поэтому для того, чтобы поставить правильный диагноз, подобрать адекватные методы лечения и возможные пути реабилитации, важно провести оценку кариотипа.

**Неоцентромеры в структуре неробертсоновской субметацентрической пары
хромосом *Ellobius tancrei***

Матвеевский Сергей Николаевич

(Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики РАН, Россия,
Москва, sergey8585@mail.ru)

В последние годы растет интерес к исследованию загадочной проблемы формирования неоцентромер. Важно, что формирование неоцентромер не связано со специфическими последовательностями ДНК; формирование эволюционно новых центромер, как и неоцентромер человека происходит в горячих точках генома. В настоящей работе использован иммуноморфологический анализ синаптомемных комплексов (СК) с помощью антител против основного белка СК - SCP3 и антител против центромерных белков (ACA). СК – скелетная белковая трехполосная структура формирующаяся в профазе I мейоза между гомологичными хромосомами.

Ранее нами проведено сравнительное исследование СК-кариотипов двух видов-двойников слепушонок *E. talpinus* (2n=54, NF=54) и *E. tancrei* (2n=54, NF=56). Установлено, что в процессе дивергенции этих видов появление неробертсоновского субметацентрика, присутствующего в кариотипах всех форм *E. tancrei* (с 2n от 54 до 32), обусловлено формированием эволюционно новой центромеры.

Нами впервые в структуре СК неробертсоновских субметацентриков у самок 34-хромосомной природной кариоморфы, самцов и самок 49- и 50-хромосомных внутривидовых гибридов *E. tancrei* выявлено по 2-3 дополнительных центромерных сигнала. Измерения позволили установить, что один из сигналов соответствует стандартному положению центромеры у данной пары хромосом (в диапазоне центромерных индексов от 0,34±0,01 до 0,36±0,02). Дополнительные центромерные сигналы были смещены либо в сторону либо короткого, либо длинного плеча.

Вероятно, появление дополнительных центромер связано с особенностями эволюции неробертсоновского субметацентрика. Известно, в структуре хромосом существуют особые районы – кластеры неоцентромер. К примеру, эти участки у приматов часто соответствуют анцестральным инактивированным центромерам, и в некоторых областях могут сохраняться особенности, которые были свойственны их предкам десятки миллионов лет назад, что может вызывать появление неоцентромер (Mehta et al., 2010).

Скорее всего, происхождение единственного неробертсоновского субметацентрика у разнородных форм *E. tancrei* путем формирования эволюционно новой центромеры и образование неоцентромер в структуре СК у некоторых кариоморф и внутривидовых гибридов *E. tancrei* взаимосвязаны между собой и являются уникальными особенностями эволюции данной пары хромосом.

**Полиморфизм сортов пшеницы по ретротранспозону *Cassandra*
*Нежигай Лилия Николаевна, Киселев Д.А.***

(Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Украина,
Киев, loli-nezh@ukr.net)

Целью работы было выяснение наличия и особенностей внутривидового полиморфизма *Triticum aestivum* L. по IRAP-маркеру ретротранспозона *Cassandra*.

Исходным материалом служили сорта озимой мягкой пшеницы украинской селекции: Колумбия, Белоцерковская полукарликовая, Ятрань 60, Полесская 90, Мироновская 61, Подолянка и китайский сорт яровой мягкой пшеницы Sumai 3, высокоустойчивый к поражению фузариозом колоса. ДНК выделяли из проростков с применением ЦТАБ. Для IRAP-PCR использовали праймеры к консервативным участкам LTR ретротранспозона *Cassandra*.

Всего было получено 17 амплифицированных фрагментов, 4 из которых присутствовали во всех исследуемых вариантах. Общий уровень межсортового полиморфизма составил 76,47%. По полученным данным рассчитывали меру генетического родства и генетические дистанции по Nei. Для исследуемых сортов показатель генетического расстояния находился

в пределах 0,0606 - 1,0415, что свидетельствует о значительной генетической гетерогенности в пределах вида *Triticum*.

На основе величин генетических дистанций выявлено два основных кластера. В первый вошли сорта Мироновская 61, Ятрань 60, Подолянка и Sumai 3. Во второй - Полеская 90, Белоцерковская полукарликовая, Колумбия. В данном случае не отмечено выразительной кластеризации сортов по признаку устойчивости к фузариозу колоса. К каждому из кластеров вошли устойчивые (Sumai 3 – в первый, Колумбия – во второй), а также средне- и неустойчивые сорта (Белоцерковская полукарликовая и остальные). Это может быть объяснено тем, что при IRAP-PCR анализируется аллельное состояние локусов в пределах всего генома, а не аллельное состояние отдельного гена или кластера генов. Сорт яровой мягкой пшеницы китайского происхождения Sumai 3, по исследуемому маркеру оказался генетически близким к озимым сортам украинской селекции.

Авторы выражают благодарность за научное руководство и обсуждение результатов зав. кафедры молекулярной генетики и биобезопасности проф. д.б.н. Чеченовой Т.Н. и проф. д.с-х. н. Крючковой Л.А.

CENTB5 как возможный ген, ассоциированный с криптогенной и симптоматической эпилепсией

Пицик Екатерина Васильевна

(НИИ Экспериментальной Медицины СЗО РАМН, Россия, Санкт-Петербург)

В настоящее время ген центаурина $\beta 5$ (*CENTB5*) мало изучен. В одном из интронов *CENTB5* находится минисателлитный тандемный повтор UPS29. Ранее нами была обнаружена ассоциация коротких аллелей UPS29 с криптогенной и симптоматической эпилепсией у женщин и высказано предположение о возможном участии гена *CENTB5* в патогенезе эпилепсий. Известно, что многие мультифакториальные заболевания связаны с изменением количества копий гена. Поэтому был проведен анализ количества копий гена *CENTB5* у здоровых людей (N=25) и пациентов с эпилепсией (N=25). Количество копий *CENTB5* определяли методом ПЦР в режиме реального времени на ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови. Для установления числа копий использовали стандартные калибровочные кривые, в качестве интеркалирующего красителя был выбран SYBR Green I («QIAGEN»). В исследованных группах контроля и пациентов с эпилепсией различий по количеству копий *CENTB5* не выявлено (обнаружено 2 копии гена на диплоидный геном).

Было проверено предположение об участии UPS29 в патогенезе исследуемых форм эпилепсий. Известно, что минисателлитные ДНК могут модулировать экспрессию генов. Анализ *in silico* показал, что UPS29 содержит большое количество потенциальных сайтов связывания как для активаторов, так и репрессоров транскрипции и, вероятно, UPS29 может модулировать активность *CENTB5*. Оценка уровня экспрессии гена *CENTB5* была проведена с помощью метода ПЦР в режиме реального времени. Уровень экспрессии определяли относительно референсных генов *ACTB*, *B2M* и *GAPDH*. В исследованных группах не было выявлено зависимости между уровнем экспрессии *CENTB5* и длиной аллелей UPS29. Уровень экспрессии *CENTB5* составлял в среднем 65% от уровня экспрессии референсных генов.

Таким образом, исследованные случаи криптогенной и симптоматической эпилепсии не были вызваны делециями и/или дупликациями гена *CENTB5*, а скорее всего обусловлены негативным влиянием коротких аллелей минисателлита UPS29. Следует отметить, что отсутствие различий в уровне экспрессии *CENTB5* между здоровыми людьми и пациентами с эпилепсией было обнаружено в лейкоцитах. Не исключено, что предполагаемые различия в уровне экспрессии *CENTB5* могут иметь место в тканях нервной системы. В пользу этого предположения свидетельствуют полученные нами в модельных экспериментах данные об энхансерных свойствах UPS29 в клетках нейронального происхождения. Поэтому роль UPS29 в патогенезе различных форм эпилепсий требует дальнейшего исследования.

MALDI ToF масс-спектрометрия для сполиготипирования *M. tuberculosis*.

Рукин Илья Владимирович

*(Российский государственный аграрный университет имени К.А. Тимирязева,
Зооинженерный факультет, Россия, Москва, Ruki.N.ilyA@gmail.com)*

Конец XX века и начало XXI характеризовались ростом заболеваемости туберкулезом во многих странах мира, независимо от их экономического статуса и социального уровня жизни. Одной из основных задач современной эпидемиологии туберкулеза является изучение вопросов и закономерностей развития эпидемии, поиск причин и факторов, способствующих распространению штаммов *M. tuberculosis*, обладающих определенными свойствами, в человеческой популяции. Метод сполиготипирования (от англ. Spoligotyping), являющийся одним из наиболее распространенных методов типирования патогена, основан на определении полиморфизма участка хромосомной ДНК *Mycobacterium tuberculosis*, называемого DR регионом («DR» - англ. direct repeat). DR регион содержит ряд прямых повторов, разделённых уникальными спейсерными участками.

Целью исследования являлась модернизация существующей классической методики сполиготипирования путем применения реакции удлинения праймера с последующей детекцией продуктов реакции с помощью MALDI-ToF MS(Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass-Spectrometry, времяпролётная масс-спектрометрия с матричной лазерной десорбционной ионизацией) для идентификации сполиготипа.

316 образцов ДНК *M. tuberculosis* было выбрано из коллекции ЦНИИ Туберкулёза РАМН. Амплификация интересующего региона проводилась по стандартному протоколу. Для определения структуры DR региона использовался метод удлинения праймера с последующим MALDI ToF масс-спектрометрическим анализом.

На основании последовательности информативного участка DR региона было подобрано 43 спейсер-специфических праймеров, объединённых в 8 мультипраймерных систем для определения сполиготипа. Согласно международной базе данных SpolDB4 (The Fourth International Spoligotyping Database) 70% изучаемых штаммов относились к Beijing семейству. На долю LAM9, T1 и Haarlem3 пришлось 3%, 2,3% и 2% образцов, соответственно. Всего было выявлено 15 семейств, но встречаемость каждого из них была менее 1%. Результаты проведённого исследования, полученные с помощью модифицированного метода, полностью совпали с результатами, полученными с помощью классического сполиготипирования этих образцов.

Подходы для выявления референтных генов кукурузы *Zea mays*

Сафина Анита Фаридовна¹, В. Ю. Гориков², Я. Ю. Топоркова², Ю. В. Гоголев²

(¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, ²Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Россия, Казань, anita-safina@mail.ru)

Исследование особенностей экспрессии генов в последние годы занимает одно из ведущих мест в фундаментальных и прикладных областях биологии. На сегодняшний день наиболее точный способ определения экспрессии генов заключается в сравнительном количественном анализе транскриптов целевого гена и стабильно экспрессирующегося гена «домашнего хозяйства» (housekeeping gene). При этом уровень экспрессии последнего принимается за константную величину. Универсального референтного гена, который всегда бы проявлял один и тот же уровень экспрессии в различных условиях, при различных воздействиях и на разных стадиях онтогенеза не существует. Поэтому отправной точкой в любых исследованиях, касающихся изучения особенностей экспрессии генов, является грамотный подбор референтных генов, позволяющих адекватно интерпретировать экспериментальные данные.

Цель настоящей работы заключалась в разработке тестовой системы для выявления стабильно экспрессирующихся генов кукурузы (*Zea mays* L.). Для этого нами был проанализирован алгоритм расчета стабильности экспрессии генов GeNorm. Для работы с этим алгоритмом на основе литературных данных были выбраны «гены-кандидаты», которые у ряда видов растений охарактеризованы как наиболее стабильно экспрессирующиеся. В число этих кандидатов входили следующие гены: актина, тубулина,

глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы, фактора элонгации, белка контроля клеточного деления и убиквитина. С использованием всемирной базы данных нуклеотидных последовательностей (NCBI) были найдены гомологичные гены у кукурузы и выбраны наиболее оптимальные области для амплификации участков ДНК при помощи ПЦР. С помощью пакета программ vector NTI Advance9, были сконструированы праймеры, которые затем были нами экспериментально протестированы. На амплифицируемую область были сконструированы флуоресцентные зонды TaqMan, необходимые для проведения количественного ПЦР-анализа в реальном времени. Данная система в дальнейшем позволит среди «генов-кандидатов» выявить наиболее стабильно экспрессирующиеся гены, что обеспечит высокую достоверность результатов по оценке особенностей экспрессии генов у исследуемого нами объекта.

**Изучение мутанта *er2 Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. с изменением
функционирования апикальной меристемы побега
Солтабаева Айгерим Даулетбеккызы**

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва,
arabidopsis2004@mail.ru)

Изучение генетического контроля процессов морфогенеза растений – важнейший раздел генетики и биологии развития. В контроле развития растений участвует большое число взаимодействующих генов. Анализ мутантов модельных объектов генетики растений с изменениями морфологии побега и корня является наиболее эффективным путем выявления всех генов, контролирующих развитие растения. Наибольшее число генов, контролирующих морфогенез, выявлено у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. – модельного растения из рода крестоцветных.

В коллекции *A.thaliana* кафедры генетики МГУ есть мутант *erecta2 (er2)*, характеризующийся утолщенным прямостоячим (эректоидным) стеблем. Мутация характеризуется рецессивным моногенным характером наследования, однако детальные исследования ее фенотипического проявления ранее не проводились. Наши исследования показали, что помимо изменения структуры стебля, мутант характеризуется уменьшением площади листовой пластинки, что связано главным образом с уменьшением ее длины. Кроме того, у мутанта *er2* снижено количество розеточных листьев, а также длина вегетативных и генеративных междоузлий по сравнению с диким типом. Электронно-микроскопический анализ морфологии эпидермальных клеток показал, что уменьшение размера листьев и междоузлий у мутанта *er2* обусловлено изменением полярности клеток – клетки мутанта шире, но значительно короче, чем у дикого типа. Изменения полярности клеток характерно и для органов цветка мутанта *er2*. Это приводит к укорочению всех органов цветка. В результате этого бутоны мутанта всегда открыты.

В цветках мутанта иногда наблюдали образование пестиков из 3-4-х плодолистиков (у дикого типа пестик всегда имеет два плодолистика). Поскольку увеличение числа плодолистиков и утолщение стебля – характерные признаки мутантов *clv1*, *clv2* и *clv3*, проведено изучение взаимодействия гена *ER2* с генами *CLV1*, *CLV2* и *CLV3*, контролирующими размер апикальной меристемы побега. Показано, что двойные мутанты *er2 clv1*, *er2 clv2* и *er2 clv3* сочетают признаки обоих родителей, т.е. взаимодействия генов не наблюдалось. В то же время, нами выявлено комплементарное взаимодействие гена *ER2* с геном *LE*, контролирующим синтез брассиностероидов. Растения двойного мутанта *er2 le-2* имели полукарликовый фенотип, причем высота их стебля была существенно ниже, чем у обеих родительских форм. Эти результаты свидетельствуют о совместном участии генов в контроле полярности клеток.

Репрограммирование нейральных стволовых клеток крысы к плюрипотентному состоянию

Стеклова Анастасия Евгеньевна

(Новосибирский государственный университет, факультет Естественных наук,
Россия, Новосибирск, tiammeka@gmail.com)

Лабораторная крыса (*Rattus norvegicus*) является одним из модельных объектов, на котором проводится широкий спектр фундаментальных и клинических исследований. Технологией получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) крысы, основанная на введении в дифференцированные клетки определенных факторов для репрограммирования до состояния плюрипотентности, в комплексе с использованием крыс в качестве моделей патогенеза различных заболеваний человека, может создать перспективную базу по исследованию возможностей и безопасности применения заместительной клеточной терапии в лечении заболеваний.

В качестве исходной линии использовали нейральные клетки, полученные из мозга эмбриона самки крысы линии *Wistar*. Иммуноцитохимическим анализом было показано, что часть клеток в культуре экспрессирует маркеры нейральных стволовых клеток: *NESTIN* и *PSA-NCAM*. Методом ОТ-ПЦР была показана экспрессия генов *Pax6* (эктодермальный маркер) и *Sox2* (один из четырех генов, необходимых для репрограммирования).

Для проведения репрограммирования использовали управляемую доксициклином лентивирусную систему транскрипции генов *Oct4*, *Sox2*, *Klf4* и *c-Myc*. Суть системы заключается в том, что клетки трансдуцировали двумя лентивирусами. Один из вирусов несет кассету из кДНК четырех генов, необходимых для репрограммирования, другой несет ген негативного тетрациклинового трансаktиватора. В присутствии в среде доксициклина трансаktиватор способен активировать транскрипцию кассеты генов. После трансдукции клетки культивировали в среде для поддержания ИПСК с использованием ингибиторов сигнальных путей. На седьмой день после добавления доксициклина в среду наблюдали появление колоний, напоминающих по морфологии колонии эмбриональных стволовых клеток.

Анализ репрограммированных клеток показал наличие маркеров плюрипотентности: активность щелочной фосфатазы и экспрессию эндогенных *Nanog* и *Rex1*. При этом реактивация X-хромосомы не происходила: анализ полученных клеток крысы показал наличие маркеров неактивного хроматина на X-хромосоме. При дифференцировке ИПСК в эмбрионидных тельцах наблюдали экспрессию маркеров энто- и мезодермы: *Gata6*, *Sox17*, *T (Brachyury)*, что говорит о дифференцировке в разные зародышевые листки и, следовательно, о прохождении этих клеток через стадию плюрипотентности.

Активность рибосомных генов и уровень хромосомных aberrаций у детей, подвергавшихся воздействию радона

Тимофеева Анна Александровна

(Учреждение Российской академии наук Институт экологии человека СО РАН,
Кемеровский государственный университет, Биологический факультет, Кемерово, Россия,
coldunica@mail.ru)

На сегодняшний день является актуальным изучение структурной целостности хромосом человека в условиях генотоксических воздействий. Процессы адаптации организма к влиянию неблагоприятных условий внешней среды во многом обусловлены индивидуальными генотипическими особенностями, в число которых входит и активность рибосомных генов.

Были изучены хромосомные aberrации (ХА) в 48-часовых культурах лимфоцитов периферической крови 149 детей шорской (50%), русской национальностей (23%) и метисов – потомков шорско-русских браков (27%), проживающих в школе-интернате г. Таштагол Кемеровской области, где были зарегистрированы сверхнормативно высокие значения уровня радона внутри помещений (479,71 Бк/м³). Активность рибосомных генов оценивали на препаратах хромосом, окрашенных нитратом серебра. Использовали полуколичественный способ оценки в баллах по методу, предложенному Н.А. Ляпуновой.

Уровень ХА в обследованной группе составил $4,38 \pm 0,16\%$, что выше регионального фонового уровня (2,86%). Межэтнические различия не зарегистрированы. Самые низкие значения дозы активных рибосомных генов были зафиксированы у детей русской национальности ($18,52 \pm 0,07$ баллов), самые высокие – у метисов ($19,15 \pm 0,07$ баллов), у шорцев – $18,88 \pm 0,05$ балла. В группе метисов было зафиксировано уменьшение уровня ХА у детей с низкой дозой активных рибосомных генов (<18 баллов) по сравнению с детьми со средней дозой (18-20 баллов). У шорцев обнаружено статистически значимое уменьшение частоты встречаемости аберраций хромосомного типа и клеток с множественными ХА ($0,81 \pm 0,17\%$ и $0,00\%$) у обследованных с высокой дозой активных рибосомных генов (>20 баллов) по сравнению с обследуемыми со средней дозой ($1,41 \pm 0,18\%$ и $0,15 \pm 0,05\%$ соответственно). В группе детей русской национальности модифицирующего влияния дозы активных рибосомных генов на уровень ХА выявлено не было.

Работа поддержана государственным контрактом ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы» № 16.512.11.2062; грантом РФФИ, 10-04-00497-а.

Генотипирование пород крупного рогатого скота и овец с помощью ISSR-PCR Феофилов Антон Владимирович

(Российский Государственный Аграрный Университет имени К.А. Тимирязева, центр нанобиотехнологий, Россия, Москва, foton3@yandex.ru)

Генотипирование животных имеет большое значение в связи с поиском новых генетических резервов, которые могут быть использованы в выведении новых пород сельскохозяйственных животных. Особое внимание при выборе метода генотипирования следует уделять надежности, стоимости и сложности выбранной системы маркеров. Использование ISSR-PCR является одним из наиболее удобных с этой точки зрения. Нами были проанализированы представители некоторых пород крупного рогатого скота и овец с использованием двух ди- и двух тринуклеотидных фрагментов микросателлитов в качестве праймеров в ПЦР. Последовательность (GAG)₆C давала 8 ампликонов, фрагменты длинами около 820, 540 и 320 п.н. наблюдались у всех исследованных особей, полиморфными оказались фрагменты длиной 750 п.н. (выявлен у всех якутских животных) и у 9 из 23 коров из Псковской обл.; фрагмент 650 п.н. (присутствовал у половины представителей чернопестрой породы, и у 22 из 23 коров красной эстонской породы). Фрагмент длиной 280 п.н. был обнаружен только у якутских коров. По праймеру (GA)₆C нами были выявлены 3 ампликона длинами около 590, 510 и 260 п.н., причем полиморфизм в спектрах отсутствовал. У овец эдильбаевской породы этот же праймер давал продукт длиной в 200 п.н., который может различать внутривидовые типы, праймер (AG)₆C позволил выявить полиморфизм у внутривидовых типов (фрагмент длиной 780 п.н. встречался только у бирликского типа). По праймеру (GAG)₆C полиморфизм выявлен только по трем локусам из восьми, однако ни по одному из них не наблюдается достоверных отличий по частоте встречаемости аллелей между внутривидовыми типами. По праймеру (CTC)₆C все 17 выявленных нами локусов полиморфны, но ни по одному из них не наблюдается зависимость частоты встречаемости аллеля от внутривидового типа, хотя проявление двух локусов зависит от пола животных. Таким образом, применение метода ISSR-PCR позволяет в ряде случаев различать по совокупности спектров маркеров виды, породы и внутривидовые типы животных. Спектры ампликонов также иногда указывают на фрагменты, специфичные конкретной группе животных (например, фрагмент длиной 280 п.н. по праймеру (GAG)₆C у якутских коров). Предварительный поиск в GenBank позволяет предположить, что ампликоны могут быть ассоциированы с генами 2 класса МНС и с белками, отвечающими за фолдинг хроматина.

**Картирование сайтов инициации репликации в центре инактивации X-хромосомы
полевки *Microtus rossiameridionalis*
Шерстюк Владимир Владимирович**

*(Новосибирский государственный университет, факультет Естественных наук,
Россия, Новосибирск, sv-411@inbox.ru)*

В данной работе проведено исследование процесса инициации репликации в центре инактивации X-хромосомы полевки *Microtus rossiameridionalis*. Данный локус имеет размер около 60 т. п. н. и содержит четыре гена: *Enox*, *Xist*, *Tsix*, *Slc7a3*, отличающихся по транскрипционному статусу в разных типах клеток, представляющих различные стадии развития. Таким образом, данный локус представляет интерес в изучении инициации репликации в онтогенезе и установлении связи между расположением ориджинов репликации, их эффективностью и экспрессией генов в данном локусе.

Для установления локализации ориджинов репликации был выбран метод анализа насыщенности новосинтезированными нитями ДНК. С использованием количественного ПЦР анализа была установлена локализация и проведено сравнение расположения и эффективности ориджинов репликации в клетках экстраэмбриональной энтодермы, фибробластах и трофобластных стволовых клетках полевки *Microtus rossiameridionalis*. Показано наличие нескольких ориджинов репликации в исследуемом локусе и изменение их эффективности в зависимости от типов клеток.

ПОДСЕКЦИЯ «ГИДРОБИОЛОГИЯ И ОБЩАЯ ЭКОЛОГИЯ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Сообщества макрозообентоса небольших рек северных окраин Алтайской горной системы

Батурина Наталья Сергеевна

(Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск,
ns_baturina5@mail.ru)

Фауна водных беспозвоночных животных горных водотоков Алтайского края и Республики Алтай исследована недостаточно. Гидробиологическое изучение водотоков Горного Алтая, испытывающих в настоящее время всё возрастающую антропогенную нагрузку, позволяет получить материалы по зоогеографии, структуре и динамике биоценозов горных рек с целью мониторинга их экологического состояния. Цель данной работы — выявить региональные особенности структурных и функциональных характеристик сообществ макрозообентоса малых рек северных окраин Алтайской горной системы. Материал исследования — 74 пробы зообентоса (48 качественных и 26 количественных), собранных в рр. Ануй и Сема в течение первой половины июля 2010 г. Места отбора проб определялись их высотой над уровнем моря. При этом участки располагались сверху вниз в пределах 200-метровых высотных интервалов.

Вклад отдельных групп в количественное развитие макрозообентоса оценивали по биомассе и по интенсивности метаболизма.

В ходе исследования выявлено 72 вида макрозообентоса, из них в р. Сема обнаружено 66. Наиболее широко представлены отряды Ephemeroptera и Trichoptera, 27,2 % и 31,8 % от общего числа видов, соответственно. В верховьях реки наибольшие показатели биомассы и доли интенсивности метаболизма в сообществе характерны для представителей рода *Cinygmula* (отряд Ephemeroptera) $4,11 \pm 0,01$ г/м² и 14,70 %. По этим показателям в среднем течении реки и при переходе реки в её равнинную часть доминируют представители отряда Trichoptera: *Dicosmoecus palatus*, *Ceratopsyche nevae* и *Brachycentrus subnubilis*. Среди 62 видов зообентоса р. Ануй отряды Ephemeroptera и Trichoptera представлены наибольшим количеством видов. В верховьях по биомассе и вкладу в интенсивность метаболизма доминируют представители рода *Planaria*: $5,21 \pm 0,01$ г/м² и 20,35 %, в среднем течении — род *Cinygmula*: $4,28 \pm 0,01$ г/м² и 20,64 %, а в равнинных участках — доминируют Trichoptera. Изменения значения коэффициента Сьёренсена–Чекановского, рассчитанного для соседствующих участков, сходны для обеих рек. Так, в верховьях рек значения (приведены данные для р. Сема) понижались от 0,44 до 0,41, в среднем течении они повышались от 0,41 до 0,47, а при переходе реки в её равнинную часть значения вновь понижались от 0,47 до 0,40, что, на наш взгляд, связано с изменением комплекса абиотических факторов: расхода воды, её электропроводимости и характера грунта.

Влияние низкоинтенсивного электромагнитного излучения на гидробионтов

Воробьева Ольга Владимировна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва,
olvorobieva@rambler.ru)

В настоящее время низкочастотное электромагнитное излучение не только применяется в медицинской практике для лечения и профилактики широкого круга заболеваний, но и зачастую оказывается фоном существования организмов, в том числе и человека. Повсеместное использование лазерных и диодных систем создает фон, влияние которого на биоту нуждается в оценке. С другой стороны, не до конца ясны те выгоды от применения таких источников в сельском хозяйстве и аквакультуре.

Исследования проводили на культуре рачков *Daphnia magna*. Рачков облучали светодиодом с красной матрицей (максимальная длина волны 650 нм, интенсивность излучения $0,91$ мВт/см²) один раз, в возрасте 24 часов, со временем экспозиции 1с и 60 с.

Наблюдения за исходной и дочерней генерациями продолжались до 21 суток. Исследовались такие характеристики, как смертность, плодовитость и размеры тела.

Облучение с экспозицией 1с приводит к снижению плодовитости на 6% от контроля и увеличению длины тела при наступлении половозрелости и при достижении возраста 21 сутки на 3% и 2%, соответственно. Облучение с экспозицией 60с давало прирост плодовитости на 19%, увеличение длины тела на 3,4% при наступлении плодовитости и на 2,7% на 21 день. При этом за время проведения эксперимента погибло 10% облученных особей. Исследование потомков F1 показало снижение плодовитости у особей после экспозиции 1с и 60с на 18% и 14%, соответственно. При этом размеры тела были практически равны размерам тела у контрольных особей. За 21 день эксперимента наблюдалась смертность 13% в контроле и по 17% у облученных рачков.

В первом помете особей, облученных в течение 60с, 14% оказались мертвыми, а 42% имели морфологические аномалии. Наиболее часто встречалось изменение строения вторых антенн (отсутствие щетинок, одноветвистость или полная редукция антенн). В последующих пометах, как и в поколении F1, процент уродливых или мертвых особей был существенно ниже (меньше 1%). Облучение рачков с экспозицией 1с также приводило к рождению измененной и мертвой молодежи, но такие формы были достаточно редки и не превышали 1% от общего процента рожденной молодежи.

Таким образом, воздействие низкоинтенсивного электромагнитного излучения может, с одной стороны, вызывать увеличение плодовитости и размеров тела, с другой стороны, приводить к рождению мертвых или уродливых особей в исходной и дочерней генерациях.

Продолжительность жизни ветвистоусых рачков *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg в лабораторной культуре

Герикович Дарья Михайловна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, papyrus451@yandex.ru)

Весьма информативным показателем состояния организма служит продолжительность его жизни. Сведения о продолжительности жизни лабораторных животных позволяют точно спланировать эксперимент, достигнуть воспроизводимости результатов. Целью нашей работы стало определение изменения продолжительности жизни рачков *Ceriodaphnia affinis* в лабораторной культуре в зависимости от сезонности и изменения температурных условий.

Исследования проводили в соответствии со стандартными методиками на особях из культуры *Ceriodaphnia affinis*, на протяжении ряда лет содержащейся в лаборатории. Учитывали полную продолжительность жизни цериодафний до момента их гибели.

В 2007 - 2010 годах было проведено 25 серий наблюдений. Средняя продолжительность жизни рачков *C. affinis* в лабораторной культуре варьировала от 14,2 до 46,6 суток. Максимальная продолжительность жизни изменялась в пределах от 33 до 69 суток. Наименьшие значения средней и предельной продолжительности жизни ежегодно отмечались у рачков, рожденных в июне и ноябре. Обобщенная по всем сериям на протяжении года средняя продолжительность жизни составила $27,32 \pm 3,72$, а предельный срок жизни - $51,44 \pm 3,59$ суток.

Средняя температура в опыте находилась в диапазоне от 20,6 до 23,9°C, средняя температура в первые 14 суток опыта от 20 до 24°C, температура в день постановки опыта от 18 до 24°C. Величины коэффициентов корреляции показателей продолжительности жизни с температурой в течение опыта по абсолютной величине не превышают 0,5. Следовательно, незначительные температурные колебания в течение года ($21 \pm 3^\circ\text{C}$), изменение средней температуры в опыте в пределах от 20,6 до 23,9°C непосредственного влияния на продолжительность жизни рачков не оказывают.

Мы предполагаем, что отмеченные изменения являются проявлением сезонной изменчивости продолжительности жизни рачков *C. affinis* в лабораторной культуре. При планировании опыта по испытанию действия на ракообразных потенциально вредоносных факторов среды следует выбирать период наименьшей жизнестойкости тест-объекта.

Разделение пространственных и пищевых ресурсов в ассоциациях инфузорий семейства Trachelocercidae Белого моря

Есаулов Антон Сергеевич

(Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, esaulovanton@yandex.ru)

Инфузории семейства Trachelocercidae являются наиболее значимым компонентом морских микробентосных сообществ. Известно, что на песчаных и илисто-песчаных грунтах трахелоцерциды особенно обильны и разнообразны. Вместе с тем остается открытым вопрос, каким образом происходит разделение нишевого пространства в ассоциациях нескольких морфологически близких видов. Целью настоящей работы явилось исследование разделения пространственных и пищевых ресурсов в ассоциации инфузорий-трахелоцерцид на литорали Белого моря.

Исследования проводили в июне-августе 2009 г. в губе Грязной эстуария реки Черной Кандалакшского залива Белого моря. Исследовали вертикальное распределение инфузорий в толще грунта (в слоях 0–0.5, 0.5–1, 1–2, 2–3 см), горизонтальное распределение на трансекте от уреза воды (на максимальном отливе) до верхней литорали, горизонтальное распределение вдоль среднего горизонта литорали (в соответствии с изменением степени заиленности грунта), а также пищевые спектры инфузорий.

Ассоциация была образована пятью видами инфузорий (в порядке убывания их обилия): *Tracheloraphis striatus* Raikov, 1962, *Trachelocerca incaudata* (Kahl, 1933) Foissner, 1997, *Tracheloraphis phoenicopterus* (Cohn, 1866) Foissner, 1996, *Tracheloraphis oligostriata* (Raikov, 1962) Foissner, 1996, и *Trachelocerca sagitta* (Müller, 1786) Ehrenberg, 1840. Наиболее сильно нишевое пространство разделяется по пище. Среднее перекрыwanie пищевых спектров составляет 35%. По вертикали все виды показывают сходные предпочтения, предпочитая населять верхний 1 см грунта. По горизонтали наблюдается промежуточная ситуация. Большинство видов предпочитают обитать в одном из локусов пространства (станция 3). При этом *T. sagitta* и *T. incaudata* также обильно развиваются на станции 5, а *T. oligostriatus* – на станции 2.

Таким образом, разделение ресурсов в ассоциациях инфузорий осуществляется в первую очередь за счет пищи, во вторую – в результате горизонтального распределения видов, и лишь в незначительной степени – по вертикали.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 10-04-00511-а).

Изучение структуры сообщества *Arctica islandica* (Bivalvia) в проливе Великая Салма (Кандалакшский залив Белого моря)

Исаченко Артем Игоревич

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, isachenko.msu@gmail.com)

Целью настоящей работы является выявление области обитания, изучение пространственной структуры и количественных характеристик сообщества с доминированием двусторчатого моллюска *Arctica islandica*. По образу жизни это фильтрующий сестонофаг, обитающий в верхней сублиторали Белого моря, предпочитающий песчаные или илистые грунты и образующий плотное поселение на исследуемом полигоне.

Для достижения поставленной цели наряду с применением традиционных океанографических методов были использованы данные гидролокации бокового обзора (ГЛБО). Использование совокупности этих методов позволяет значительно увеличить качество получаемых данных и точность картографирования при работе на большой площади. Данные ГЛБО успешно применяются для выделения контрастных биологических объектов, таких, как мидиевые и устричные банки, коралловые рифы. Зарываясь в грунт и оставляя на поверхности только сифоны и часть раковины, моллюски *A. islandica*

значительно влияют на акустическое изображение дна, что позволяет выделять области с высокой плотностью поселения моллюсков.

В результате гидроакустического исследования, проведенного в 2009 г., был выделен контур области возможного обитания *A. islandica* в западной части пролива Великая Салма у о. Высокий. Для этого был использован ГЛБО “Гидра”. Количественные пробы собирались дночерпателем “Океан” с площадью захвата 0,1 м², было отобрано 79 количественных проб бентоса.

При анализе полученных данных был выявлен набор параметров, влияющих на структуру донного сообщества, и проанализировано влияние каждого из них на плотность поселения моллюсков. По результатам интерпретации данных ГЛБО было выделено три типа записи, которые отражают совокупность гранулометрического состава осадка, микрорельефа и пространственной структуры сообщества. Основное влияние на последний фактор имеет распределение *A. islandica*. Кроме этого была выявлена неравномерность в распределении особей моллюсков, относящихся к разным размерным классам, и нелинейная зависимость между биомассой изучаемого вида и глубиной.

Проект поддержан Федеральной целевой программой Министерства образования и науки РФ.

Плодовитость *Daphnia magna* в ряду поколений при действии неорганического пестицида

Кулагина Кристина Владимировна

(Ульяновский государственный университет, *Экологический факультет, Россия,*

Ульяновск, puankarel@yandex.ru)

Поступление пестицидов из окружающей среды в живой организм можно рассматривать как пример хронической химической интоксикации. В начальном ее периоде, как правило, не наблюдаются специфические изменения, а проявляются нарушение стабильности определенных жизненных функций. Токсическое действие малых доз пестицидов носит малоспецифичный скрытый характер, угроза которого заключается в изменении резистентности организма и возможном развитии отдаленных последствий, при этом наблюдается сложная полимодальная зависимость «концентрация - эффект» на всех уровнях организации.

Результаты исследования хронического влияния пестицида неорганической группы «Сера коллоидная» в малых дозах показывают, что особи *Daphnia magna* реагируют изменением репродуктивной функции, темпов роста и развития. В ходе опытов были определены следующие показатели тест-объекта: темп роста; период созревания (время от рождения до первого помета); число пометов за то же время, на которое рассчитывается продукция; интервал между пометами (сутки); количество молодежи в одном помете; общее количество молодежи, рожденное одной самкой в течение жизни. Для популяции в целом и отдельно для каждого поколения находили потенциальную продукцию, то есть численность потомства за время жизни одной самки.

Анализ влияния витальных концентраций пестицида на репродуктивные показатели *Daphnia magna* в ряду поколений показывает, что при концентрации 4,0 г/л количество новорожденных в одном помете достоверно ниже контроля на всем протяжении хронического эксперимента. При концентрациях 3 г/л и 2 г/л данный показатель составлял 38,10-55,69 % и 63,78-86,52 % от контрольного соответственно. Продолжительность периода эмбрионального развития *Daphnia magna* при концентрации 4 г/л увеличивалась в 2 раза к IV поколению. Созревание особей I поколения замедлялось уже при концентрации 1 г/л, при этом яйца в выводковой камере наблюдались на 1-2 дня позже, чем в контроле.

Число пометов на всем протяжении опытов было существенно ниже контрольных показателей. В каждом поколении за время 30-суточного эксперимента было получено 2-4 выводка. Среднее число их варьировало от 12,88±1,12 до 28,43±1,98 особей. Во всех поколениях число новорожденных на одну самку в контроле было выше, чем в опытных группах. При действии всех исследованных концентраций общее количество молодежи во всех генерациях ниже контроля.

Анализ хронического влияния малых доз «Серы коллоидной» указывает на эффект угнетения репродуктивной функции *Daphnia magna*. Полученный результат подтверждается продукционно-садковой методикой, где соотношение потенциальной продукции в опыте и в контроле в зависимости от концентраций составляет 0,88-0,94, что также указывает на угнетение плодovitости тест-объекта.

Результаты исследования показывают, что исследованный препарат в малых дозах оказывают угнетающее действие на воспроизводство *Daphnia magna*: отмечается задержка в созревании яиц, удлинении эмбрионального и постэмбрионального развития, удлинении интервала между пометами.

Выражаю искреннюю благодарность научному руководителю д.б.н., проф. Каменек Валерию Михайловичу за помощь в написании тезисов и д.ф.-м.н., проф. Учайкину Владимиру Васильевичу за методическую помощь.

Внутрипопуляционная гетерогенность параметров флуоресценции у морской планктонной водоросли *Thalassiosira weissflogii* при трех уровнях солености
Курочкина Виктория Александровна

(Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, vika230307@yandex.ru)

Способность популяции водорослей к акклимации к изменяющимся факторам среды определяется функциональной неоднородностью клеток в пределах одной популяции. Сведения о внутрипопуляционной гетерогенности водорослей при акклимации к такому важнейшему абиотическому фактору, как соленость, до настоящего времени отсутствовали.

Исходным материалом для экспериментов служила альгологически чистая культура морской планктонной водоросли *Thalassiosira weissflogii* (Grunow) Fryxell et Hasle, выращенной на среде с соленостью 17,5‰, приготовленной на основе искусственной морской воды. Водоросли высевали на среды с соленостью 8,8‰ (S1), 17,5‰ (S2), 35‰ (S3), обогащенные по прописи среды f/2. Водоросли росли 35 суток при температуре 20⁰ С, освещенности 75 мкЕ/м²·с и продолжительности светового периода 14 часов в сутки. По мере роста культур каждые 2 – 3 дня у отдельных клеток измеряли параметры флуоресценции под люминесцентным микроскопом ЛЮМАМ И-3, оснащенный насадкой ФМЭЛ-1А. У адаптированных к темноте клеток измеряли флуоресценцию при открытых (F_o) и закрытых (F_m) реакционных центрах и рассчитывали относительный выход переменной флуоресценции $F_v / F_m = (F_m - F_o) / F_m$, который является мерой потенциальной квантовой эффективности фотосистемы 2.

Рост биомассы клеток наблюдался до 25 суток при пониженной и средней солености и до 21 суток при повышенной. Максимального значения биомасса достигала в условиях повышенной солености, хотя различия не достоверны. При всех уровнях солености выявлена внутрипопуляционная вариабельность F_v / F_m . По мере роста культур среднее значение F_v / F_m снижалось, что обусловлено истощением биогенных элементов в культуральной среде. Коэффициент вариабельности F_v / F_m и показатель асимметрии распределения числа клеток с разным значением F_v / F_m увеличивались по мере роста культур. После 18 суток роста наибольшая вариабельность F_v / F_m отмечена в популяции, росшей при солености 35‰, наименьшая вариабельность – у популяции, росшей при 17,5‰. Показатель асимметрии также был самым высоким у популяции, росшей при 35‰ концентрации солей, тогда как популяции, росшие при 8,8‰ и 17,5‰, имели близкие значения асимметрии. Полученные результаты показывают, что при акклимации водорослей к повышенной солености внутрипопуляционная вариабельность фотосинтетической активности выше, чем при акклимации к пониженной солености.

Средообразующая роль морской травы *Zostera marina* (Linnaeus, 1753) в прибрежных экосистемах Приморья

Мулярь Яна Юрьевна

(Дальневосточный Федеральный университет, Россия, Владивосток,
yanysik_10@mail.ru)

Зостера морская широко распространена в Японском море и формирует особую среду обитания для многих гидробионтов, которые находят убежище в ее зарослях, питаются и нерестятся. Работа основана на описании сообщества *Zostera marina* из бухты Киевка Японского моря (юго-восточное Приморье). Были определены размер и распределение поля зостеры, средняя длина листьев, проективное покрытие дна (%), биомасса листьев и корневищ ($г/м^2$), видовое богатство (общий список видов сообщества) и видовое разнообразие (число видов/ $м^2$), а также плотность поселения ($экз./м^2$) видов в составе данного биоценоза. Оценено влияние зарослей зостеры на содержание соединений фосфора и концентрацию органического углерода в грунте.

В б. Киевка *Z. marina* растет от глубины 0,5 до 1,5 м в прибрежной части в районах с песчаными и песчано-галечными заиленными грунтами. Всего в составе сообщества обнаружено 56 видов животных и 5 видов растений из следующих групп: полихеты, двустворчатые и брюхоногие моллюски, равноногие и десятиногие ракообразные, хитоны, морские звезды, амфиподы, мшанки, пиявки, красные водоросли, зеленые и бурые водоросли. Максимальную долю в видовом разнообразии составляют полихеты. Общая биомасса зостеры варьирует от $600 г/м^2$ до $1457 г/м^2$, увеличиваясь по разрезу от берега к морю. В ярусе корневищ обнаружено 49 видов беспозвоночных. Суммарная биомасса сообщества составляет в среднем $1699 г/м^2$.

В структуре сообщества (зостера доминанта (*Z. marina*)) составляет 60% общей биомассы, 30% приходится на двустворчатых моллюсков (главным образом рудитапес и макома), 4% на брюхоногих. Заросли зостеры способствуют накоплению органического вещества в донных осадках, увеличивая его содержание по сравнению с окружающими грунтами в 2,5-3 раза. Содержание органических соединений фосфора в поверхностных водах в зоне поля в августе может достигать $463 мкг/л$, более чем в 5 раз превышая концентрации в водах вне зоны поля.

Радиочувствительность и морфологические особенности культур *Scenedesmus quadricauda* Turp., выделенных из водоемов с разным уровнем радиоактивного загрязнения

Поромов Артем Андреевич

(ГОУ ВПО Челябинский государственный университет, Россия, Челябинск,
aporomov@yahoo.com)

Фитопланктон, будучи источником первичной продукции, может выступать передаточным звеном при переносе радионуклидов на более высокие трофические уровни. Цель работы – изучение радиочувствительности и морфологических особенностей культур зеленой водоросли *Scenedesmus quadricauda* Turp., выделенных из водоемов-хранилищ жидких радиоактивных отходов ПО «Маяк» (Челябинская область).

Гидробиологические исследования в этих водоемах проводились нерегулярно и в малом объеме. Наибольший уровень загрязнения радионуклидами отмечается в водоеме В-17 (10^4 - 10^6 Бк/л), меньшее содержание в водоемах В-4 (10^4 Бк/л), В-10 (10^3 Бк/л). Для сравнения использовали *S. quadricauda* из Шершневского водохранилища на р. Миасс (Челябинская область) и лабораторную культуру *S. quadricauda*. Культивирование производили в среде Прата, облучение суспензий проводили в гамма-установке ИГУР-1 в дозах 50, 100, 150, 200 Гр.

С высоким уровнем достоверности можно сказать, что высокий уровень радиоактивного загрязнения (10^6 Бк/л) вызывает нарушение деления клеток *S. quadricauda* внутри ценобия, и, как следствие, вызывает увеличение доли двухклеточных ценобиов. С увеличением уровня загрязнения увеличивается скорость роста, максимальная скорость роста отмечается у культуры из водоема В-17, минимальная у культуры из Шершневского водохранилища (10^{-3}).

10^2 Бк/л). С повышением уровня радиоактивного загрязнения уменьшается объем клеток и уменьшается радиочувствительность, наименьшей обладают культуры из водоемов В-4 и В-17 (10^4 – 10^6 Бк/л). Вероятно, такое снижение радиочувствительности культур *S. quadricauda* из водоемов-хранилищ объясняется длительным существованием водорослей в условиях хронического радиационного воздействия. Таким образом, у культур из наиболее загрязненных водоемов уменьшаются объемы клеток, и нарушается соотношение количества клеток в ценобных, но это компенсируется повышением скорости роста.

На основании исследования можно предположить стратегию адаптации *S. quadricauda* к высоким уровням радиоактивного загрязнения.

Автор выражает благодарность научному руководителю Л. В. Дерябиной и сотрудникам экспериментального отдела УНПЦ РМ.

Развитие малоресничных инфузорий (Oligotrichia, Ciliophora) в летне-осенний период в озере Байкал

Потанская Надежда Викторовна

(Лимнологический институт СО РАН, Россия, Иркутск, potanskaya@yandex.ru)

Малоресничные инфузории (п/кл. Oligotrichia Bütschli, 1887) – одна из основных групп пресноводного и морского протозоопланктона. В озере Байкал они составляют основу весеннего максимума цилиопланктона, когда общая биомасса инфузорий может превышать биомассу метазоопланктона. Динамику этой группы исследовали в летне-осенний период в «теплые» 2005, 2008 гг. (температура воды $>16^\circ\text{C}$) и «холодный» 2006 г. (температура воды $<14^\circ\text{C}$). Пробы фиксировали кислым раствором Люголя с дофиксацией формалином 1–2% конечной концентрации, обрабатывали осадочным методом. Зависимость динамики численности инфузорий от температуры оценивали коэффициентом ранговой корреляции Спирмена (r) при уровне значимости $P=0,05$.

В летне-осенний сезон 2005, 2008 гг. планктонные инфузории в пелагиали озера развивались по одному сценарию. В июне сохранились остатки весеннего комплекса, количественные показатели инфузорий были низкими (500–1800 кл./л, 20–88 мг/м³ в слое 0–25 м). Доминировали два круглогодичных вида олиготрих *Strombidium* sp., *Limnostrombidium pelagicum* Krainer, 1995 (и тинтиниды в 2008 г.). В июле развивались «летние» виды, и к началу августа численность олиготрих достигала максимальных значений 1700–7800 кл./л. Доминировали мелкие олиготрихи *Rimostrombidium* spp. и миксотрофный *L. viride* (Stein, 1867) Krainer, 1995. Летний пик развития инфузорий в конце августа – начале сентября был обусловлен бурным развитием перитрих (п/кл Peritrichia), доля олиготрих сохранялась низкой до октября (10–35%). Осенью доминировали мелкие гапториды *Mesodinium* spp. В 2006 г. выраженного летнего пика в развитии инфузорий не зарегистрировано, олиготрихи сохраняли доминирующее положение в течение лета и осени (45–65 %).

Устойчивая положительная связь с температурой ($r=0,78$) обнаружена лишь у *L. viride*. В целом, развитие олиготрих слабо зависело от температуры ($r=0,49$), они доминировали в цилиопланктоне озера в прохладное лето. В годы с высоким прогревом воды их вытесняли более теплолюбивые перитрихи, а летний максимум малоресничных инфузорий наступал раньше периода максимального прогрева воды и пика развития остальных инфузорий.

Исследования частично поддержаны грантом РФФИ № 08–04–90009–Бел а и интеграционным проектом СО РАН № 49 (рук. О.А. Тимошкин). Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю к.б.н. Л.А. Оболкиной, а также д.б.н. Н.А. Бондаренко и д.б.н. О.А. Тимошкину.

Макрозообентос водоемов с товарным выращиванием радужной форели (*Parasalmo mykiss Walbaum*)

Савосин Евгений Сергеевич

(Институт биологии Карельского научного центра РАН, Лаборатория экологии рыб и водных беспозвоночных, Россия, Петрозаводск, szhenya@list.ru)

Низкая продуктивность северных водоемов заставляет искать пути ее повышения. Одним из таких способов является садковое производство радужной форели (*Parasalmo*

mykiss Walbaum). В Карелии в настоящее время его объем составляет 13 тыс. тонн. В связи с этим происходит значительное увеличение биогенной нагрузки на водоемы, что влечет за собой снижение прозрачности воды, увеличение биомассы и продукции всех звеньев трофической цепи. Современные антропогенные воздействия на водные экосистемы, как правило, весьма сложны, необходимо изучать состояние биоты, определяющееся всем состоянием среды и четко реагирующим на негативные воздействия любого происхождения, независимо от их учета и степени изученности. В 2006-2008 гг. проводились исследования макрозообентоса в трех губах Онежского озера (Уницкая, Святуха, Кефтьень). Определен таксономический состав донных беспозвоночных в районе форелевых ферм, который представлен, главным образом, личинками хирономид, олигохетами, нематодами, а доминирующей группой является Chironomidae.

Биомасса донной фауны Уницкой губы составила $1,22 \pm 0,34$ г/м², Святухи - $2,28 \pm 0,72$ г/м², Кефтьень-губы - $3,83 \pm 0,95$ г/м². Анализ данных по состоянию макрозообентоса трех губ Онежского озера показал, что на начальных этапах эксплуатации ферм существенных изменений в его составе, качественных и количественных показателях не выявлено, они находятся на уровне межгодовых колебаний. По шкале трофичности Уницкая губа относится α -олиготрофным водоемам, Святуха – β -олиготрофным с чертами мезотрофии, Кефтьень-губа - β -мезотрофным. В связи с тем, что донные организмы позже реагируют на происходящие изменения в экосистемах, чем другие группы гидробионтов, для оценки состояния макрозообентоса исследования необходимо продолжить.

Работа выполнена в рамках ФЦП государственного контракта № 02.740.110700.

Исследование влияния бихромата калия на микроводоросли семейства *Selenastraceae*

Спиркина Наталья Евгеньевна

*(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва,
natus25@list.ru)*

Лабораторные популяции микроводорослей широко используются как чувствительные тест-объекты для оценки токсичности химических веществ и оценки качества природных и сточных вод. В условиях современного постоянно возрастающего антропогенного воздействия на водные экосистемы остается актуальной проблема совершенствования методов биотестирования состояния окружающей водной среды и поиск новых чувствительных тест-объектов для адекватной оценки качества воды.

В связи с этим была введена в культуру микроводоросль *Monoraphidium arcuatum* (Korsch.) Hind. семейства *Selenastraceae*, которую выращивали на среде Успенского №1 с соблюдением стандартных условий в люминистате при периодическом освещении лампами дневного света (12:12 ч) и температуре $21 \pm 2^\circ\text{C}$. Использовали эталонный токсикант бихромат калия, широко применяемый в мировой практике. Его влияние в диапазоне 10, 1 и 0,1 мг/л оценивали по изменению численности в контрольной культуре и в присутствии токсиканта.

При концентрации 10 мг/л уже на 1 сутки относительная численность клеток составила 77%, а в последующем постоянно снижалась и на 15 сутки составляла 1,7% от уровня контроля. Несмотря на повышение температуры во второй половине эксперимента (до 30°C), численность оставалась по-прежнему минимально низкой (не более 2% от контроля). Концентрацию 1 мг/л можно рассматривать как среднетоксичную, при которой численность была на 50-60% ниже, чем в контроле. При концентрации 0,1 мг/л численность изменялась в пределах контроля и имела тенденцию к увеличению во вторую половину эксперимента в связи с повышением температуры. По окончании эксперимента после отмыва от токсиканта и пересева в чистую, не содержащую токсиканта среду, численность водорослей во всех вариантах опыта увеличивалась, но после пребывания в концентрациях 10 и 1 мг/л численность клеток на чистой среде превышала таковую в контроле, а после пребывания в концентрации 0,1 мг/л была значительно ниже, чем в контроле. Такое изменение численности клеток в разных вариантах опыта, по-видимому, можно объяснить тем, что после нахождения клеток при высоких концентрациях токсиканта и повышенной

температуре хром быстрее выводился из клеток по сравнению с водорослями, находившимися при 0,1 мг/л бихромата калия.

Metabolic and molecular responses of *Carassius auratus gibelio* as biomarkers of pesticide toxicity. Effect of the history of population
Falfushynska Halina, Gnatyshyna L., Turta O.

(Ternopil National Pedagogical University, Ukraine, Ternopil, halynka.f@gmail.com)

In recent years increasing emphasis has been placed on the use of biomarkers as a tool for monitoring both environmental quality and adaptation of organisms. A key goal of this study was to develop a sensitive approach to assess the relative environmental risks associated with the pesticide pollution in ecologically relevant conditions based on the biomarkers responses of widely explored and highly tolerate to environmental conditions freshwater teleost Cyprinidae.

Gibel carp *Carassius auratus gibelio* from chronically polluted (B) and reference (Z) sites were exposed to clofentezine (commercial form Apollo, 0.002 and 0.010 mg·L⁻¹) during fourteen days. A battery of markers included markers of oxidative stress, concentration of metallothionein (MT), activities of biotransformation system (ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) and glutathione-S-transferase (GST)), cholinesterase (ChE) in the liver, micronuclei in the erythrocytes, and vitellogenin-like protein (Vtg-LP) level in plasma was determined.

Fish demonstrated remarkable high tolerance to Apollo in the acute experiment. LC₅₀(96) was higher than 1.5 mg·L⁻¹. Despite EROD activity and genotoxicity was low and similar in the fish from two populations, the effect of toxic surrounding was confirmed for the fish from site B based on battery of markers. The common effect of Apollo on the fish from two populations was expressed as genotoxicity, significant elevation of EROD activity and increased level of Vtg-LP in male fish. In both populations, the decreasing of the accumulation of metals in the tissues but the elevation of the concentration of metal-keeping proteins MTs was indicated. The peculiarities of effect of Apollo on the fish from site Z were related to the inhibition of SOD and GST and activation of LPO. Depletion of GSH and decreasing of RI GSH was also shown. On the contrary, in the fish from polluted site, effect of Apollo provoked activation of GST, elevation of GSH in the gills and enhanced antioxidative activity. Neurotoxicity of pesticide was not revealed. Response of biomarkers was dependent on the history of population more than on the effect of Apollo. To summarize, gibel carp from chronically polluted site was better equipped to the detoxification of Apollo.

This work was granted by the Ministry of Education and Science of Ukraine (#M/567-2009) and by West-Ukrainian BioMedical Research Center. The authors are grateful to the Projects leaders, Prof. O.B. Stoliar (Ukraine), Dr J. Venkateswara Rao (India) for valuable scientific advices and critically review of abstract.

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

Зоопланктон зарослей макрофитов озер Раифского лесничества ВКГПБЗ

Абальмова Александра Александровна

(Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, факультет Почвоведения, Россия, Москва, stervochka_86602@inbox.ru)

Объектом исследования являлся зоопланктон зарослей макрофитов 4 озер ВКГПБЗ Республики Татарстан. Отбор проб проводился в июле 2009 г., в литоральной зоне в зарослях макрофитов: стрелолиста на оз. Раифское; роголистника темно-зелёного на оз. Раифское и Белое; водного риса на оз. Белое; кубышки жёлтой на оз. Линёво; осоки на оз. Илангово. Теоретически из-за обмеления озёр и их зарастания высшей водной растительностью должно происходить изменение структуры зоопланктона озер, в сторону образования зарослевых сообществ, отличающихся по качественным и количественным характеристикам. Это необходимо отразить в мониторинге озёр ВКГПБЗ.

Целью исследования являлось изучение зоопланктонного сообщества зарослей макрофитов и выявление закономерностей в изменении структуры зоопланктона озёр вследствие их зарастания. Для этого был выявлен видовой состав зоопланктона зарослей макрофитов и дана эколого-географическая характеристика выявленных видов; по стандартной методике подсчитаны численность и биомасса зарослевого планктона; проведён сравнительный анализ качественных и количественных характеристик пелагического и зарослевого планктона, а также сравнительный анализ зоопланктона различных зарослей. На основании полученных данных выявлены закономерности, свойственные сообществу зоопланктона зарослей макрофитов.

В составе летнего зарослевого зоопланктона озёр системы ВКГПБЗ было обнаружено 42 вида: коловратки - 19 видов восьми семейств; ракообразные – 23 вида: *Cladocera* - 19 видов семи семейств и *Copepoda* (отр. *Cyclopoida*) – 4 вида. Часто встречающимися видами коловраток являлись *Euchlanius lyra lyra*, *Lecane luna*, *Trichocerca capucina*, среди ветвистоусых - *Bosmina longirostris* и *Ceriodaphnia reticulata*, из веслоногих - *Mesocyclops leuckarti* и *Microcyclops varicans*. Повсеместно встречающимся и доминирующим видом является *Ceriodaphnia reticulata*. Большая часть видов является зарослевиками и эврибионтами. Анализ видового состава показал, что в пелагиали и зарослях доминируют разные виды зоопланктона. В зарослях это коловратки и ветвистоусые. В пелагиали это только коловратки. Эта же закономерность прослеживается и по показателям численности и биомассы. То же самое и по качественным и количественным характеристикам в каждом озере отдельно. В зарослях и пелагиали складываются сообщества отличные друг от друга, о чём свидетельствует низкий индекс сходства.

В результате исследования можно сделать следующий вывод: из-за обмеления озёр и зарастания их высшей водной растительностью происходит изменение в структуре зоопланктона озёр - в зарослях складывается сообщество, отличное от пелагического по своим качественным и количественным характеристикам.

Популяционная структура промысловых брюхоногих моллюсков в бухте Киевка (Японское море)

Нагорнова Ксения Ивановна

(Дальневосточный федеральный университет, Россия, Владивосток, i.8.6@yandex.ru)

Промысловые брюхоногие моллюски достигают значительной численности в природных экосистемах. Являясь хищниками и некрофагами, они находятся на последних звеньях трофических цепей и могут существенно влиять на состав и динамику численности других беспозвоночных, в частности двусторчатых моллюсков, среди которых многие относятся к объектам промысла.

Целью работы является изучение популяционной структуры массовых представителей промысловых брюхоногих моллюсков: *Buccinum mirandum*, *B. middendorffi* (сем. Buccinidae) и *Nucella heyseana* (сем. Muricidae) в б. Киевка. Исследования проводились в период с июня по сентябрь 2010 г., для сравнительного анализа использованы также материалы сотрудников ДВФУ В.А. Ракова и Е.М. Боруля (сборы 1990-х годов).

В районе исследований трубоч *B. mirandum* обитает на глубине 0,6-2 м на скалистом грунте, а *B. middendorffi* - преимущественно на песчаном и илисто-песчаном грунтах, часто вблизи зарослей морских трав. Ущелла *N. heyseana* встречается на плоских скалистых умеренно-прибойных рифах, образует скопления в местах поселения мидии *Crenomytilus grayanus*, которая является ее основной пищей. В расщелинах скал, заполненных плотным песком, обитают закапывающиеся двусторчатые моллюски: тихоокеанский петушок *Ruditapes philippinarum*, мелкосетчатая прототака *Protothaca euglypta*, короткосифонная калиста *Calista brevisifonata*, гастрона *Heteromacoma irus*. Перечисленные виды являются пищевыми объектами изучаемых брюхоногих моллюсков. Обычно одну жертву, добытую из песка *B. mirandum*, одновременно поедает несколько (7-10) особей.

В популяции *B. mirandum* средние размеры и масса в 1993-1995 гг. составляли 44,3 мм и 14,12 г, в 2002-2003 гг. – 42,6 мм и 10,38 г, в 2010 г. 43,4 мм и 13,14 г. Средние размеры и масса *B. middendorffi* в 1993-1995 гг. были 43,3 мм и 9,16 г, в 2010 г. 45,3 мм и 10,12 г.

Средние размеры и масса *N. heyseana* в 1993-1995 гг. составляли 57,5 мм и 19,3 г, в 2002 и 2003 гг. – 58,4 мм и 24,23 г, в 2010 г. 57,8 мм и 20,14 г. Чаще встречались моллюски *B. mirandum* размерной группы 44-50 мм, *B. middendorffi* - 42-46 мм, *N. heyseana* – 56-60 мм.

В популяциях *B. mirandum* и *B. middendorffi* преобладали моллюски в возрасте 3-4 лет, а *N. heyseana* – 4-5 лет. Соотношение полов для *B. mirandum* равно 2:1, тогда как для *B. middendorffi* и *N. heyseana* это соотношение было равным. Численность *N. heyseana* в сообществах мягких грунтов была значительно меньше, чем трубочей, при этом *B. mirandum* преобладал над *B. middendorffi*, и его плотность обычно была не более 2-3 экз./м².

Грант Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования, по организации межфакультетской лаборатории "Биология морских беспозвоночных", договор № 11.G34.31.0010

Распространение многотычинкового сига *Coregonus lavaretus* (L.) в Карелии Савосин Денис Сергеевич

(Институт биологии Карельского научного центра РАН, Россия, Петрозаводск,
sdeniska@list.ru)

Для своевременной оценки изменений водных экосистем в условиях возрастающей антропогенной нагрузки необходимо изучение современного состояния сообществ гидробионтов. В настоящее время многие виды рыб становятся редкими, исчезающими или уже исчезнувшими. Сохранились и такие популяции пресноводных рыб, которые слабо исследованы, к ним можно отнести многотычинкового сига водоемов Карелии. Поскольку в ихтиофауне озер эта форма сига слабо представлена и малочисленна, биология его изучена недостаточно, за исключением Онежского озера, Нюкозера и Сямозера.

В 2007-10 гг. проводились исследования по распространению многотычинкового сига в Карелии. Установлено, что этот сиг обитает в 32 озерах, которые принадлежат к разным бассейнам (Балтийского, Белого морей) и отличаются между собой по гидрологическим, гидрохимическим и гидробиологическим условиям. В 2007 году многотычинковый сиг был впервые обнаружен в Тумасозере. Данных об этих сигах не так много, поэтому обнаружение новой популяции представляет особый интерес. Водоем слабо подвержен антропогенному воздействию, удален от населенных пунктов и промышленных предприятий. Определено, что сиг Тумасозера отличается большим числом жаберных тычинок (48-60), характеризуется быстрым темпом роста, поздним созреванием и планктонным питанием. В связи с тем, что в озере сизи представлены только одной экологической формой, нет промежуточных форм и, следовательно, отсутствует скрещивание, его можно использовать на генетические и биохимические исследования при анализе родственных связей внутри сложного вида *C. lavaretus*. Доказано, сизи одними из первых реагируют на изменения в экосистемах и могут служить индикаторами их состояния. Полученные данные могут быть использованы для прогнозирования возможных изменений в водных экосистемах при естественных и антропогенных воздействиях.

Работа выполнена в рамках ФЦП государственного контракта № 02.740.110700.

ПОДСЕКЦИЯ «ЗООЛОГИЯ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Распределение почвенной мезофауны по поперечному профилю речной долины р. Большая Кокшага

Бастраков Александр Иванович

(Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Россия, Москва,
aibastrakov@gmail.com)

В мае 2010 г. были начаты почвенно-зоологические исследования на территории Республики Марий Эл, в долине р. Большая Кокшага по выявлению состава почвенной мезофауны и сравнительного анализа структуры животного населения основных типов долинных биоценозов по поперечному профилю речной долины.

Выбранные пробные участки располагались от уреза воды к надпойменной террасе, включая основные элементы поймы: от молодых пляжных сообществ, до хорошо сформированных биоценозов центральной поймы и надпойменной террасы. Сбор материала проводили с помощью стандартных почвенных раскопок и ловушками Барбера.

В летний период 2010 г из-за аномальной жары численность и биомасса почвенной мезофауны во всех исследованных биоценозах была значительно ниже, чем в обычные годы. Пик разнообразия и численности группировок почвенных беспозвоночных приходится на биоценозы высокой поймы. Причиной высокого разнообразия групп почвенных животных является хорошо сформированные почвы с большим количеством гумуса и благоприятные гидротермические условия.

Анализ динамической активности показал, что состав и количественное соотношение различных групп герпетобиинтов значительно меняется в течение сезона и типа пойменного биоценоза. В весеннее, паводковое время, пик обилия приходится на биоценозы первого прируслового вала, что связано с миграцией поверхностного обитающего населения на этот участок с близлежащих территорий. Доминирующими группами герпетобиинтов были жужелицы, стафилины и пауки. После спада воды наиболее высокая численность герпетобиинтов в течение лета отмечается уже в пляжной зоне. Население этого типа поймы наиболее видоспецифично. В сообществах высокой поймы население герпетобиинтов было близко по составу и динамике к «типично лесному», с характерной для смешанных лесов динамикой.

Исследования клеток полости тела *Ophelia limacina* (Opheliidae, Polychaeta)

Белова Полина Андреевна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва,
belova@wsbs-msu.ru.)

Многие беспозвоночные (кольчатые черви, моллюски, сипункулиды, членистоногие и др.) имеют клетки, плавающие в полости тела – целомоциты. Функции целомоцитов многообразны. Они участвуют в иммунных реакциях, фагоцитозе, раневом заживлении и регенерации, продукции гемоглобина, запасании питательных веществ, секретируют биологически активные вещества и др. Целомоциты описаны для таких семейств полихет, как Arenicolidae, Opheliidae, Glyceridae, Nephtyidae, Terebelidae, Nereidae, Capitellidae. Настоящее исследование посвящено описанию нового типа целомоцитов, найденных в полости тела многощетинкового червя *Ophelia limacina* (Rathke, 1843) (Opheliidae).

Материалом для данной работы послужили 60 особей *O. limacina*. Черви были собраны в сублиторали Белого моря в районе ББС МГУ в 2006–2010 гг. Материал был зафиксирован по стандартным методикам для сканирующей и трансмиссионной микроскопии.

Целомоциты, обнаруженные у *Ophelia limacina*, необычного строения: это клетки 25-350 мкм длиной, содержащие в центре электронно-плотный стержень. С увеличением размера червя центральный стержень целомоцитов растет вместе с клеткой, которая в процессе роста изменяет свою форму. Когда клетка достигает максимальных размеров 300-350 мкм, стержень занимает практически всю цитоплазму. В результате экспериментов на живом

материале были выявлены следующие функции целомоцитов: ответ за неспецифическую иммунную реакцию организма (адгезия и фагоцитарная активность), закупорка ран, аккумуляция в центральном стержне веществ, которые могут быть как продуктами обмена, не выведенными из организма, так и запасным веществом.

Часть функций необычных целомоцитов *O. limacina* совпадает с функциями целомоцитов других полихет. Однако целомоциты *O. limacina* сильно отличаются от них морфологически. Скорее всего, центральный стержень несет важную функциональную нагрузку, которая ждет своего исследования.

Работа поддержана контрактами Роснауки № 02.740.11.0280 и Рособразования № П1291, П727, грантами РФФИ № 08-04-00512-а, №10-04-01547-а и Федеральной целевой программой министерства образования и науки Российской Федерации.

**Строение покровов тела Kamptozoa на примере вида *Barentsia discreta* Busk, 1886
Борисанова Анастасия Олеговна**

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, borisanovaa@mail.ru)

Kamptozoa — это небольшой таксон водных беспозвоночных животных с невыясненным до настоящего времени систематическим положением. Имеющиеся данные молекулярных и морфологических исследований противоречивы и не дают ясной картины. Поэтому необходимы дальнейшие подробные исследования морфологии и микроскопической анатомии представителей данного таксона. Данная работа посвящена исследованию покровов тела колониального вида *Barentsia discreta*. Материал собран в заливе Восток Японского моря (Находкинский район Приморского края) с раковин моллюска *Modiolus difficilis* на глубинах 5-10 м и зафиксирован в 2,5%-ном р-ре глутаральдегида на какодилатном буфере для исследования ультраструктур. Все особи колонии *B. discreta* имеют одинаковое строение. Тело разделено на ножку, имеющую расширенное мышечное основание и тонкий несократимый стебелек, и чашечку, несущую по краю венчик ресничных щупалец. Покровы ножки, дорсальной поверхности чашечки и абфронтальной стороны щупалец представлены однослойным нересничным эпидермисом, одетым слоем микровиллярной кутикулы, состоящей из нескольких слоев. Кутикула дорсальной поверхности чашечки и кутикула мышечного основания состоит из рыхло-волокнистого и осмиофильного слоя. В стебельке помимо рыхло-волокнистого и осмиофильного слоя присутствует также плотный хитиноидный слой кутикулы. Вентральная поверхность чашечки и фронтальная поверхность щупалец выстлана ресничным эпидермисом, покрытым тонким слоем протокутикулы. Латеро-фронтальные клетки фронтальной стороны щупалец и эпидермальные клетки анального конуса несут сократимые филаменты и являются, таким образом, эпителиально-мышечными клетками.

Строение кутикулы ножки и дорсальной поверхности чашечки *B. discreta* сходно со строением кутикулы представителей Annelida. Ресничный эпидермис, одетый тонким слоем протокутикулы, встречается у представителей разнообразных таксонов первичноротых животных, в том числе у Rotifera, Cycliophora, личинок Polychaeta.

Для определения истинного положения Kamptozoa в системе животного мира необходимо дальнейшее изучение морфологии и микроскопической анатомии представителей этого таксона.

Работа поддержана Министерством образования и науки РФ, контракт № 02.740.11.0875

**Способность к обучению у наездников комплекса
Anisopteromalus calandrae (Hymenoptera: Pteromalidae)
Быстреева Кристина Анатольевна**

*(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия, tui_tiki@mail.ru)*

На примере наездников двух близких видов рода *Anisopteromalus*, различающихся спектром хозяев, проверяли гипотезу о наличии корреляции между способностью особей к

индивидуальному обучению и экологической пластичностью вида. Природные популяции *A. calandreae* Howard связаны с широким кругом хозяев, в том числе с долгоносиками, в то время как другой вид *Anisopteromalus* sp. обнаружен только на точильщиках. В ольфактометре были изучены реакции самок наездников на хозяев: долгоносика *Sitophilus granarius* L. и точильщика *Lasioderma serricorne* F. Тестировали самок каждого вида, развивавшихся на разных хозяевах и различавшихся навыком заражения (не заражавших, а также заражавших того или иного хозяина). Самки *A. calandreae* независимо от условий развития отдавали предпочтение своему основному хозяину – *S. granarius*. На поисковое поведение влияли условия культивирования: развитие на альтернативном хозяине приводило к снижению реакции на основного хозяина. Важнейшим фактором, оказывающим воздействие на поисковое поведение наездников *A. calandreae*, является заражение хозяина определенного вида (в том числе и альтернативного), что приводит к существенному возрастанию реакции именно на этого хозяина. У наездников *Anisopteromalus* sp. условия культивирования не влияли на их врожденное предпочтение точильщика *L. serricorne*. Поисковое поведение самок менялось только в результате заражения ими *L. serricorne*, что проявлялось в существенном возрастании реакции на этого хозяина, при этом увеличение реакции было более выражено именно у самок, развивавшихся на точильщике. Наряду с этим в ольфактометре изучали реакции наездников обоих видов на запах фурфурилгептааноата (FFH, условный стимул) непосредственно после того, как они заразили по одной особи своего основного хозяина (безусловный стимул) в присутствии запаха FFH. При тестировании наездники обоих видов проявляли положительную условно рефлекторную реакцию на запах FFH. Таким образом, наездники рода *Anisopteromalus* обладают способностью к обучению. Однако *A. calandreae* в большей степени модифицирует поисковое поведение в ответ на химические стимулы, связанные с хозяевами. Вероятно, это связано с большей экологической пластичностью *A. calandreae*, с необходимостью решать разнообразие поведенческие задачи при поиске разных хозяев.

Ультраструктура эпидермальных папилл *Travisia forbesii* (Annelida, Polychaeta) – новые данные для уточнения систематического положения рода.

Водопьянов Степан Сергеевич

(Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
Москва, Россия, stepan.vodopianov@yandex.ru)

По результатам работ по молекулярной систематике многощетинковых червей недавно началось обсуждение положения рода *Travisia*: ряд авторов предложил перенести его из семейства Opheliidae в Scalibregmatidae. В то же время, для *Travisia forbesi* характерно особое строение эпидермиса, не описанное более ни у кого. Мы поставили задачу подробно описать на ультраструктурном уровне эпидермис травизии, и сравнить с аналогичными данными для *Ophelia limacina* и *Scalibregma inflatum*. Живой материал был собран в окрестностях БС МГУ в 2007-2009 гг. с глубин 5-12 м, зафиксирован для гистологии жидкостью Буэна, для электронной микроскопии глутаровым альдегидом с постфиксацией оксидом осмия, изучен на световом уровне и сканирующем и трансмиссионном электронных микроскопах.

Почти вся поверхность тела травизии сложена из бугорков, эпидермальных папилл. Они тесно сближены между собой, не развиты лишь на жабрах и головной и анальной лопастях. Папиллы смонтированы в кутикулу, свободными остаются лишь их верхушки. Каждая папилла – это сфера с ножкой, которая соединяет ее с нижележащим эпидермальным пластом клеток. Внешняя поверхность и промежутки между папиллами заполняет кутикула, она же образует мощный внутренний слой, через который проходят ножки папилл. Тело папиллы образуют поддерживающие и железистые клетки с секретом и опустошенные, уже отмирающие клетки, на месте которых остаются электроннопрозрачные области. Живые клетки соединены клеточными контактами, целостность эпидермального пласта сохраняется. Ножка папиллы образована одной канальной клеткой, она окружает и крепится к «сердцевине» ножки – высокой складке базальной мембраны и экстраклеточного матрикса. Вдоль сердцевинки в ножке проходят пучки отростков нервных клеток. Ни у *O. limacina*, ни у

S. inflatum подобные эпидермальные папиллы не развиты. У офелии мощный внешний слой кутикулы лежит на поддерживающих клетках. Эпидермис *S. inflatum* сложен из высоких железистых клеток, собранные в прямоугольные группы, внутренний слой кутикулы отсутствует.

Работа выполнена в рамках проекта РФФИ 08-04-00512-а и также поддержана Министерством образования и науки РФ, контракт № 02.740.11.0280.

Типы ареалов мух семейства Ulidiidae Палеарктической области

Галинская Татьяна Владимировна

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, niha_1313@list.ru)

Ареалы видов семейства Ulidiidae характеризуются значительным разнообразием. На основании изучения коллекционных и литературных данных сделаны выводы о распространении палеарктических представителей семейства. За основу взята типология ареалов, предложенная К.Б. Городковым. Распространение рода *Homalocephala* (8 видов в мировой фауне) является циркумбореальным борео-монтанным. Виды *H.albitarsis* и *H.apicalis* – циркумбореальные; *H.angustata*, *H.bimaculata*, *H.biumbrata* циркумбореальные борео-монтанные; *H.tamaevi* сибиро-американский бореальный; *H.biseta* – Финляндия; *H.ozeroi* – дальневосточный вид. Род *Euxesta* (около 105 видов) распространен преимущественно в Западном полушарии. Только один вид, *E.pechumani*, завезен в Палеарктику и имеет американско-европейско-центральноазиатское распространение. Единственный вид рода *Physiphora* (24 вида), распространенный на территории России – *Ph.alcea*, космополит. Другие палеарктические виды: *Ph.clausa* – космополит; *Ph.smaragdina* – С., З. и В. Африка; *Ph.africana* и *Ph.anaglypha* – С. и З. Африка; *Ph.elbae* и *Ph.flavipes* – С.Африка; *Ph.chalybea* – С.Африка и Ц.Азия; *Ph.hainanensis* – Китай. Ареалы видов рода *Ulidia* (20 видов) весьма разнообразны: *U.erythrophthalma* – западно-центральнопалеарктический; *U.albidipennis*, *U.apicalis*, *U.megacephala*, *U.nigripennis*, *U.omani*, *U.ruficeps* – западнопалеарктические; *U.kandybinae* – восточнопалеарктический; *U.salonikiensis* – европейско-центральноазиатский; *U.wadicola* – С.Африка и Ц.Азия; *U.facialis* – С.Африка; *U.melampodia*, *U.metope*, *U.nigricubitalis*, *U.splendida* – азиатские; *U.atrata* – Ю.Европа; *U.parallela* – европейский; *U.semipaca* – Франция; *U.gongjuensis* и *U.xizangensis* – Китай. Виды рода *Timia* (57 видов) характерны для аридных местообитаний. *T.albifacies*, *T.asiatica*, *T.beybienkoi*, *T.desparsata*, *T.emeljanovi*, *T.emiliae*, *T.golbeki*, *T.gussakovskiyi*, *T.hirtipes*, *T.klugi*, *T.komarowi*, *T.monticola*, *T.pro tuberans*, *T.pubescens*, *T.testacea*, *T.turgida*, *T.(Empylocera) albiantennata*, *T.(E.) alini*, *T.(E.) amoena*, *T.(E.) ariana*, *T.(E.) berlandi*, *T.(E.) canaliculata*, *T.(E.) danieli*, *T.(E.) dimidiata*, *T.(E.) gobica*, *T.(E.) jakowlewi*, *T.(E.) kaszabi*, *T.(E.) libani*, *T.(E.) mongolica*, *T.(E.) nigriantennata*, *T.(E.) nigriceps*, *T.(E.) orientalis*, *T.(E.) pamirensis*, *T.(E.) paramoena*, *T.(E.) parva*, *T.(E.) persica*, *T.(E.) planiceps*, *T.(E.) polychaeta*, *T.(E.) reitteri*, *T.(E.) xanthostoma* – азиатские виды; *T.erythrocephala*, *T.(E.) camillae*, *T.(E.) melanorrhina*, *T.(E.) nasuta*, *T.(E.) nigrimana*, *T.(E.) xanthaspis* – южноевропейско-азиатские; *T.kerzhneri* – восточносибирско-среднеазиатский; *T.nigripes*, *T.(E.) abstersa* – кавказско-среднеазиатские; *T.punctulata*, *T.(E.) anomala*, *T.(E.) nitida* – С.Китай; *T.carbonaria* – кавказский вид; *T.pulchra* – Иран.

Изучение латеральных связей между болотной и лесной экосистемами с помощью метода стабильных изотопов

Гончаров Антон Александрович

(ИПЭЭ РАН, Россия, Москва)

Изучение взаимосвязей между экосистемами — один из важнейших вопросов современной экологии. Хищники-полифаги могут служить удобным модельным объектом для изучения латеральной субсидии органического вещества прибрежным экосистемам, так как именно они являются непосредственными акцепторами потока органического вещества, поступающего на сушу с вылетающими из воды имаго амфибионтных насекомых. Благодаря естественному фракционированию стабильных изотопов азота и углерода организмы из

разных трофических сетей отличаются по изотопному составу. Поэтому, зная изотопный состав исследуемого объекта, можно судить о его степени связи с той или иной трофической цепью.

Изучение латеральных связей между болотной и лесной экосистемами проводили с помощью количественного учёта эпигеобионтов и с помощью метода стабильных изотопов. На трансекте от болота до леса выделили 6 площадок с разной степенью увлажнённости, в каждой было установлено по 20 ловушек Барбера. Был определён изотопный состав 417 особей 26 видов жуужелиц и пауков.

Динамическая плотность и видовой состав эпигеобионтных жуужелиц и пауков заметно отличались на разных площадках. Население пауков исследованных биотопов в значительной степени зависело от "водной субсидии". Согласно данным 3-факторного дисперсионного анализа с использованием трёх доминирующих видов пауков, фактор «площадка» оказывал достоверное влияние ($n=116$, $p<0,01$) на содержание ^{13}C в тканях пауков, и при удалении от болота доля «водного» углерода в пауках уменьшалась. Жуужелицы в целом не обнаружили достоверных различий изотопного состава на разных площадках. При этом средние значения $\delta^{13}\text{C}$ жуужелицы *Pterostichus niger* Schaller, 1783 имели достоверные отличия (ANOVA: $n = 40$, $p<0,01$) и отчётливо увеличивались при удалении места их обитания от берега. Это предполагает уменьшение доли водных организмов (с низкими значениями $\delta^{13}\text{C}$) в рационе на удалённых от болота площадках. Кроме того, обнаружены закономерные различия в изотопном составе азота самцов и самок 11 видов жуужелиц (ANOVA: $n=141$, $p<0,01$) жуужелиц.

На основании полученных данных показаны наличие латерального переноса органического вещества из водной в лесную экосистему и значительная роль "водной субсидии" в энергетике некоторых групп наземных хищников.

Население пауков (*Aranei*) в экотонах северной тайги северо-запада России

Камаев Илья Олегович

(ЦЭПЛ РАН, Москва, Россия ilyakamayev@yandex.ru)

Экотон – это пространственно-ограниченная экосистема, образующая переход на градиенте одного или нескольких факторов среды между физиономически различающимися экосистемами. В экологических исследованиях данная переходная зона служит индикатором реакции видов на изменение экологических условий. Пауки являются удобным объектом индикации состояния и экологических условий экосистем.

Изучали население напочвенных и почвообитающих пауков в экотонах лес-болото и лес-тундра подзоны северной тайги Карелии (Костомукшский заповедник) и Мурманской области (Хибинские горы) в 2005-2010 гг.

Экотоны лес-болото подразделяли в зависимости от типа болотных экосистем: олиготрофный и мезотрофный. Показано, что общее число видов и число специфических видов выше в лесах, тогда как эти показатели для болот ниже. В лесных экосистемах формируется подстилочный комплекс пауков, а в болотных преобладают гигрофильные *Aranei* – обитатели сфагнового мха. В олиготрофных болотах преобладают напочвенные *Lycosidae*, в том числе среди почвообитающих пауков, что объясняется неблагоприятными гидротермическими условиями болот данного типа. В мезотрофных болотах две экологические группы пауков разграничены и не образуют смешанных видовых комплексов. В обоих случаях экотонов лес-болото показатели обилия пауков характеризуются нестабильностью, а само население *Aranei* включает две группировки видов, свойственных болотным и лесным биогеоценозам.

В экотоне лес-тундра для населения пауков свойственны наименьшие показатели обилия и видового разнообразия, тогда как в тундровой и лесной зонах эти показатели на порядок выше. В горной тундре встречается специфичный комплекс видов пауков, в котором высоко участие *Lycosidae*. Напротив, в лесотундре и лесных биогеоценозах преобладают *Linyphiidae* среди напочвенных и почвообитающих *Aranei*.

Таким образом, во всех изученных типах экотонов северотаежной зоны Северо-Запада России населению пауков не свойственно резкое увеличение показателей видового

разнообразия и обилия по сравнению с соседними экосистемами. Окружающие экотон экосистемы формируют в нем два комплекса видов пауков.

Работа поддержана Программой Президиума РАН «Биологическое разнообразие», грантом РФФИ – 10–04–00213-а и грантом Президента РФ по поддержке молодых ученых МК–4046.2011.4.

Ультраструктура и организация нервной системы полипов *Cladonema radiatum* (Hydrozoa, Cnidaria)

Майорова Татьяна Дмитриевна

(Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва, planyla@gmail.com)

Cladonema radiatum (Dujardin, 1843) относится к классу Hydrozoa, отряду Anthoathecatae, подотряду Саритата. Полипы *C. radiatum* имеют типичный внешний вид, характерный для полипоидной стадии Стрекающих, однако ультраструктура этих животных заслуживает особого внимания. Изучение тонкого строения полипов *C. radiatum* было проведено при помощи электронной микроскопии (трансмиссионной и сканирующей). Визуализацию нервной системы осуществляли иммуноцитохимическими методами с использованием конфокальной микроскопии. Интересной особенностью тонкого строения щупальца полипа *C. radiatum* является наличие двух мышечных слоев, с продольным (кнаружи от мезоглеи) и кольцевым (с внутренней стороны от мезоглеи) расположением мышечных волокон. Толщина слоя продольно направленных мышечных волокон составляет около 1µm, толщина слоя кольцевых волокон чуть меньше. На конце щупальца заметно утолщение, образованное скоплением большого количества книдоцитов. Особый интерес представляют контакты, которые образуют книдоциты и другие клетки дистальной части щупальца с мезоглеей. Необычны также специфические выросты мезоглеи, проникающие между этими клетками и несущие дополнительные контакты с латеральными поверхностями клеток. Морфологически эти контакты похожи на полудесмосомы. При нанесении антител к серотонину были выявлены многочисленные продольные волокна, проходящие в области мезоглеи полипа. Можно предположить, что толстый слой мышечных волокон в щупальцах *C. radiatum* по сравнению с другими стрекающими объясняется локализацией книдоцитов в дистальной части щупальца. В связи с этим пойманная полипом добыча располагается на уровне дистального конца щупальца, следовательно, для помещения пищи в ротовое отверстие щупальца необходимо полностью подтянуть к телу. Для выполнения этой работы необходимо достаточное количество мышечных волокон. Возможно, сокращение волокон регулируется при помощи серотонина, который заключен либо непосредственно в мышечных отростках клеток, либо, скорее всего, в тонких аксонах, оплетающих отростки мышечных клеток.

Исследования были выполнены при поддержке Министерства образования и науки РФ и Совета по грантам Президента РФ.

Особенности строения и ультраструктуры центральной нервной системы мельчайших насекомых

Макарова Анастасия Алексеевна

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, amkrva@gmail.com)

Предельно малый размер тела играет важную роль в морфологии, физиологии и биологии вида. При уменьшении размеров тела животного наблюдается сильная трансформация всех систем органов. Известно, что при уменьшении размеров тела нервная система подвергается сильной олигомеризации и концентрации ганглиев. Так же наблюдается существенное сокращение размеров и количества нейронов. В ходе работы впервые детально изучено строение ЦНС мельчайших насекомых из сем. Ptiliidae, Coleylophidae (Coleoptera), а также Mymaridae и Trichogrammatidae (Hymenoptera) с применением гистологических методов, трансмиссионной электронной микроскопии и трехмерного компьютерного моделирования.

Получены новые данные по количеству и размеру нейронов в ЦНС мельчайших насекомых. На базе трехмерных компьютерных реконструкций проанализированы относительные объемы ЦНС, мозга и его отдельных структур. С помощью метода трансмиссионной электронной микроскопии детально описана ультраструктура нейрона и нейропиля, строение омматидия сложного глаза и дорсальных глазков мельчайших насекомых. Показано, что относительный объем ЦНС и особенно надлочоточного ганглия существенно увеличивается при уменьшении размеров тела во всех изученных группах. Относительные объемы отдельных структур мозга меняются по-разному. С уменьшением размеров тела значительным аллометрическим изменениям подвергаются структуры, отвечающие за сенсорную координацию. Изометрическим изменениям подвергаются структуры комплекса центрального тела: центральное тело и протоцеребральный мост. Показана высокая степень консерватизма строения головного мозга: несмотря на предельно малые размеры тела насекомого, мозг сохраняет строение и ультраструктуру характерные для крупных представителей родственных групп.

Подтверждена гипотеза, что размер нервной системы в силу консервативности ее строения и размеров нейронов, ограниченных объемом хроматина и диаметром аксонов, является существенным фактором, лимитирующим уменьшение размеров тела.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ (МК-558.2010.4) и РФФИ (10-04-00457).

Анализ трофической приуроченности долгоносикообразных жуков (Coleoptera, Curculionoidea) агроэкосистем севера лесостепи Приволжской возвышенности при адаптивно-ландшафтном земледелии

Николаева Татьяна Геннадьевна

(ГБУ Институт проблем экологии и недропользования Академии наук Республики Татарстан, Россия, Казань, nikolaeva_tg@mail.ru)

Адаптивно-ландшафтная беспестицидная система земледелия направлена на интенсификацию биологических процессов, сохранение почвенных ресурсов и биоразнообразия. Самым многочисленным и постоянным компонентом любого наземного сообщества беспозвоночных являются долгоносикообразные жуки, изучение фауны и экологии которых необходимо при планировании природоохранных мероприятий и проведении экологического мониторинга.

Материалом для работы послужили сборы, выполненные в полевой сезон 2009 г. на территории СХПК «Ленинская искра» Ядринского района Чувашской Республики, расположенного на севере лесостепи Приволжской возвышенности. Используются стандартные методы сбора насекомых. Объем материала – около 6000 экземпляров жуков.

Выявлен 151 вид *Curculionoidea* Latreille, 1802 из 7 семейств, 13 подсемейств, 39 триб и 74 родов, что составляет почти 30% фауны долгоносикообразных жуков республики и в 1,7-2,4 раза превосходит фауну *Curculionoidea* при традиционной системе земледелия, уступая лишь в 1,5 раза фауне природно-естественных комплексов. Поскольку большинство долгоносикообразных жуков – узкоспециализированные фитофаги, то видовое богатство фауны *Curculionoidea* агроэкосистемы во многом обусловлено разнообразием (выявлено 202 вида сосудистых растений из 51 семейства и 140 родов) и пространственным расположением различных фитоценозов. Основу кормовой базы *Curculionoidea* изучаемой агроэкосистемы составляют представители семейств *Fabaceae*, *Asteraceae*, *Betulaceae*, *Salicaceae*, *Rosaceae*, *Polygonaceae*, *Fagaceae*, *Brassicaceae* - широко распространенных в агроэкосистемах. На родовом уровне наиболее богата фауна *Trifolium* L., *Salix* L., *Betula* L., *Rumex* L., *Vicia* L., *Quercus* L., *Lathyrus* L., *Medicago* L., *Alnus* Mill., *Sorbus* L. Преобладают хортобионты, значительно меньше дендротамнобионтов и дендробионтов.

Адаптивная деятельность *Formica rufa* L., направленная на снижение уровня хлоридного засоления почв, в условиях Среднего Приобья

Обрывкина Вероника Борисовна

*(Нижевартовский государственный гуманитарный университет, Россия,
Нижевартовск, sunflower89@mail.ru)*

Характерной особенностью почв Среднего Приобья является преобладание хлоридного типа засоления. Известно, постоянно перемешивая почву, муравьи регулярно восстанавливают нормальное содержание различных элементов в ее верхних слоях. Все это означает, что в местах, где обитают в достаточном количестве земляные муравьи, не произойдет губельного для растительности засоления почвы.

Анализ почвенных проб на содержание ионов хлорида был проведен, согласно ГОСТ 26425 – 85. Почвы. Методы определения иона хлорида в водной вытяжке. Определение иона хлорида аргентометрическим методом по Мору. Анализ полученных результатов показал, что *Formica rufa* L. влияют на содержание ионов хлорида в почве.

Проведенные исследования почвенных проб на содержание ионов хлорида показали, что адаптивная деятельность *F. rufa*. препятствует процессам засоления почвы. Так, в пробах почвы, отобранных с муравейников, содержание иона хлорида колеблется от 0,028% до 0,097%. Такое содержание водно-растворимых солей в почве характерно для незасоленных почв. Максимальное содержание ионов хлорида в исследуемых муравейниках составляет 0,097%, минимальное – 0,028%. Содержание иона хлорида в почвах с прилегающих территорий колеблется от 0,161% до 0,31%, что характерно для средnezасоленных почв. В среднем содержание ионов хлорида в пробах почвы, взятых из муравейников, в 4 раза меньше, чем аналогичный показатель проб почв, отобранных с прилегающих территорий (на расстоянии 5 метров от гнезда).

Таким образом, в условиях хлоридного засоления почв Нижевартовского района, *F. rufa*. вынуждены регулировать содержание ионов хлорида в почве, для поддержания комфортных для своей жизнедеятельности условий, тем самым, препятствуя процессам засоления почвы. Исходя из этого, гнезда *F. rufa* можно рассматривать как центры, оказывающие воздействие на физико-химические и биологические свойства почвы.

**Эколого-фаунистический анализ жуков-листоедов (Coleoptera, Chrysomelidae)
Пензенской области**

Пронина Ирина Геннадьевна

*(Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия,
Irina018@yandex.ru)*

Листоеды одна из самых значимых групп насекомых-фитофагов, играющих существенную роль в экосистемах. Недостаток литературных данных по отдельным областям, в частности по Пензенской области, не позволяет в полной мере оценить биологическое разнообразие листоедов Среднего Поволжья. Целью нашего исследования было изучение видового разнообразия и экологии жуков-листоедов Пензенской области.

В основу исследования положены собственные сборы, проведенные в 2006-2009 гг., а также коллекции Краеведческого музея кафедры зоологии и экологии ПГПУ им. Белинского. Было обследовано 20 из 28 районов Пензенской области. Всего нами зарегистрировано 219 видов листоедов 57 родов, что составляет 54% от энтомофауны Среднего Поволжья (402 видов).

При анализе фаунистического сходства в Среднем Поволжье выявлено, что наиболее близки по видовому составу листоедов фауны Пензенской области и Мордовии (0,53). Предполагается, что подобное распределение связано с разницей климатических условий и сменой растительных флораций. При анализе биотопического распределения выявлено, что большинство видов предпочитают селиться на мезофитных опушках лиственного леса (40%) и лугах (37%). От 32 до 27% видов встречаются на настоящих лугах, побережьях водоемов, ксерофитных опушках, луговой степи. Минимальный видовой состав (менее 21%) в лиственных и смешанных лесах, стоячих водоемах и антропогенных биотопах.

По валентности к условиям обитания более представлена группа олигобионтов – 157 видов (72%). По отношению к условиям освещения: гелиофилы (79%, 174 видов) преобладают над умеренно светолюбивыми видами (21%, 45). Относительно к такому экологическому фактору как влажность: преобладают мезофилы (68%, 150). Следовательно, в изучаемой фауне преобладают виды, предпочитающие биотопы средней и слабой увлажненности. По трофической специализации: фауна листоедов приурочена к 42 семейству растений. При этом лучше освоены двудольные растения (31 семейство) на них встречается 243, на однодольных растениях (11 семейств) – 51 вид.

Использование признаков строения полового аппарата в надвидовой систематике жуков-щелкунов подсемейства *Agrypninae* (Coleoptera: Elateridae)

Провилов Александр Сергеевич

(Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Россия, Москва, carrabus69@mail.ru)

Подсемейство *Agrypninae* – одно из самых примитивных в сем. *Elateridae*. Систематика этой группы недостаточно разработана, что связано с высокой изменчивостью в пределах *Agrypninae* многих внешних морфологических признаков, которые успешно используются для выделения надвидовых таксонов в более продвинутых подсемействах *Elateridae*. Вместе с тем, отдельные таксоны *Agrypninae* имеют характерное строение полового аппарата (ПА). Поэтому в результате комплексного изучения строения ПА и внешних морфологических признаков можно уточнить таксономический состав и диагнозы ряда родов и триб *Agrypninae*.

Нами был изучен ПА 25 видов жуков-щелкунов, принадлежащих к 9 родам двух триб: *Agrypnini* и *Conoderini*. Результаты сравнительно-морфологического исследования свидетельствуют о возможности использования ряда признаков строения ПА для выделения надвидовых таксонов *Agrypninae*. Наиболее важными из них являются строение 9-го стернита самца, эдеагуса и совокупительной сумки. С учетом этих данных подтверждена самостоятельность рода *Compsolacon*; уточнен состав ряда родов трибы *Conoderini*; выявлены апоморфные признаки строения ПА самцов, характеризующие отдельные роды и всю трибу *Conoderini* в целом (разделенная в основании рама 9-го стернита, широкое срастание парамер в основании, палочковидные шипики в их вершинной части). Показано, что с признаками строения ПА самцов хорошо коррелируют некоторые особенности внешней морфологии имаго и личинок *Agrypninae*. Благодаря этому определенные признаки ПА самца могут являться индикаторами таксономической значимости диагностических внешних морфологических признаков.

Возможность выделения группоспецифичных особенностей ПА и большое разнообразие его строения в пределах *Agrypninae* подтверждает большую древность этого подсемейства по сравнению с более молодыми группами *Elateridae* (*Elaterinae* и *Denticollinae*). При этом в строении ПА у видов подсемейства *Agrypninae* встречаются различные сочетания плезиоморфных и апоморфных признаков, а характерные для *Conoderini* апоморфные признаки строения ПА практически не встречаются у других *Elateridae*, в том числе и у представителей более продвинутых подсемейств. В целом, разнообразие строения ПА *Agrypninae* также отражает явление мозаичной эволюции, отмеченное для этого подсемейства на основе изучения признаков внешней морфологии.

Трофическая специализация коллембол определяется таксономическим положением вида

Семенова Евгения Эдуардовна

(Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова, Россия, Москва, sz-85@mail.ru)

Согласно традиционным представлениям, узкая пищевая специализация не характерна для почвенных сапрофагов и микробофагов, в том числе для коллембол. Однако разработка и применение изотопного анализа (измерение соотношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ в тканях животных) для исследования трофической структуры сообществ почвенных животных

позволили показать, что в естественных условиях коллемболы разных видов занимают разные трофические ниши. Пока остается непонятным, насколько обнаруженная трофическая специализация видов коллембол устойчива в пределах таксономических групп более высокого ранга (родов и семейств).

В нескольких типах хвойного леса были собраны коллемболы, принадлежащие к разным семействам и жизненным формам. В телах коллембол были определены естественные соотношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, которые используются для определения предполагаемых пищевых ресурсов и трофического уровня животных. Впервые показано, что разные виды коллембол в пределах одного семейства обладают схожей трофической специализацией. Заметное обогащение тяжелым изотопом азота (^{15}N) было зафиксировано для представителей семейств Neanuridae и Onychiuridae. Напротив, представители семейств Dicyrtomidae и Sminthuridae имеют небольшое содержание ^{15}N . Различия изотопного состава представителей разных семейств коллембол вполне закономерны, поскольку таксономическая принадлежность вида отражает его морфологические адаптации к освоению определенного круга экологических (в том числе трофических) ниш. В частности, коллемболы, обитающие в почве, например, Onychiuridae, характеризуются заметным обогащением ^{15}N . Напротив, виды, относящиеся к семействам Entomobryidae, Dicyrtomidae и Sminthuridae, большинство представителей которых относятся к верхнеподстилочным и атмобионтным жизненным формам, характеризуются небольшими обогащением ^{15}N . Мы предполагаем, что низкое содержание ^{15}N , характерное для верхнеподстилочных и атмобионтных форм, связано с употреблением в пищу водорослей и других низших растений, в то время как высокие величины ^{15}N у нижнеподстилочных и почвенных коллембол могут объясняться потреблением мицелия микоризных грибов и/или гумусированного органического вещества почвы. Высокое содержание ^{13}C и ^{15}N в телах представителей семейств Neanuridae предполагает, что эти коллемболы являются факультативными хищниками.

Иксодовые клещи лесного массива «Зелёная роща» окрестностей г.Череповца.

Сеничева Екатерина Николаевна

(ГОУ ВПО Череповецкий государственный университет, Россия, Череповец,
katyasenicheva@yandex.ru)

В окрестностях г. Череповца очагом поддержания трансмиссивных клещевых инфекций является лесной массив «Зелёная Роща». Начиная с 2003 г. в «Зелёной Роще» нами проводится мониторинг активности иксодовых клещей и патогенного носительства ими различных инфекций. На маршруте, протяжённостью в один 1 км, нами учитывалось число клещей, собранных с флага и учётика за 1 час. Отдельные выборки клещей исследовались на наличие у них аномалий экзоскелета и на наличие в них патогенов. В наших сборах встретился только один вид иксодовых клещей – *Ixodes persulcatus*. Более 20% клещей имеют различные аномалии, связанные с накоплением в них ионов кадмия. За последние 5 лет нами отмечается рост активности клещей: так, если в 2003-2007 годах средняя численность составляла не более 6-15 особей на флаг/час, то в 2008 г. это уже до 20 особей на флаг/час, а в 2010 г. – более 30 особей. Возможно, что это связано с изменениями среднесрочных и трендовых компонентов климата. В 2007 г. при исследовании 68 экземпляров взрослых особей таежных клещей, помимо уже известных в этом районе возбудителей, были обнаружены 2 вида протеобактерий: *C. R. tarasevichiae* (сем. Rickettsiaceae) и *Bartonella henselae*. В 2008 г. в череповецкой популяции *I. persulcatus* также впервые в Вологодской области была обнаружена особь (1 из 78), зараженная патогенным для людей видом *Borrelia lusitania*. В клещах, собранных нами в апреле 2008 г., была обнаружена одна особь (самец) с очень интенсивным уровнем заражения вирусом КЭ. Концентрация вируса, определенная методом ПЦР (RealTime PCR), была высокой – $gt = 29.2$. 75 взрослых особей, собранных там же в мае 2009 г., были исследованы пулами по 10 и 5 особей. В одном из пулов, состоящим из 10 самок содержание вируса оказалось еще более высоким – $gt = 16.6$. Эти данные свидетельствуют об активности природно-антропогенного очага клещевых инфекций в районе «Зеленая Роща» окрестностей г. Череповца.

Основные ареалогические группы карабидокомплексов (Coleoptera, Carabidae) предгорий северо-восточного Кавказа.

Айдамирова Табарик Адамовна

(Московский педагогический государственный университет, Россия, Москва, aidmil@mail.ru)

Северо-Восточный Кавказ имеет две особенности - широтную зональность и высотную поясность. Здесь встречаются практически все зоны и рельеф меняется от высокогорий до равнин. Близость Каспийского моря, полупустынь и пустынь Средней Азии и Казахстана, а так же субтропической климат южного склона Кавказа также влияет на разнообразие фауны региона. Поэтому изучение особенностей зоогеографического распространения населения жужелиц в данном регионе является актуальным.

Для анализа ареалов распространения жужелиц, зачастую используют типовую систему ареалов с учетом генезиса, что затрудняет понимание их топографической принадлежности. Нами было проведено исследование зоогеографических особенностей населения жужелиц в горных (лесная зона) и предгорных (лесостепная зона) условиях северо-восточного Кавказа по системе распространения ареалов предложенной К.Б.Городковым и Н.Б.Никитским. Отлов и учет жужелиц проводился при помощи почвенных ловушек Барбера в 2007-2009 гг. Всего было отловлено 26238 жуков (150 видов из 52 родов). Было исследовано 17 биотопов в горной лесной и равнинной лесостепной зонах. Карабидокомплексы составили 41 группу по ареалам распространения. Выявлено 9 групп, которые занимают более 60% видового и 90% численного обилия. К ним относятся: кавказская, голарктическая, евро-западно-среднеазиатско-сибирская, транспалеарктическая, космополиты, евро-кавказско-переднеазиатская, западно-центрально-палеарктическая, трансевроазиатская и евро-кавказская группы. Кавказская, евро-западно-среднеазиатско-сибирская, голарктическая, транспалеарктическая, трансевроазиатская и евро-кавказско-переднеазиатская группы входят в состав основных ареалогических групп карабидокомплексов как лесной, так и лесостепной зон. Кавказская группа наиболее многочисленна, а в лесной зоне их численное обилие достигает 47%. Значение широко распространенных видов возрастает к лесостепной зоне, где представлены западно-центрально-палеарктические виды и виды космополиты. Таким образом, карабидокомплексы предгорий северо-восточного Кавказа составили многочисленные виды кавказского распространения и разнообразные виды широкого спектра распространения.

Фауна жужелиц (Coleoptera, Carabidae) Гумбетовского района

Анохина Анастасия Андреевна, Магомедбеков Р.Х.

(Дагестанский государственный университет, Россия, Махачкала, sapphire2191@mail.ru)

Кавказ является единственным регионом России, где на сравнительно небольшой территории сконцентрировано о значительное количество видов животных и растений, причем многие из них являются эндемичными. Во всех природных зонах Дагестана ведется интенсивная хозяйственная деятельность, и ее влияние на природу региона нуждается в тщательном анализе с целью смягчения негативных последствий. Представители семейства Carabidae играют существенную роль в естественных и антропогенных ландшафтах.

Целью работы было изучение видового состава жужелиц Гумбетовского района и биоэкологических особенностей важнейших видов.

Впервые для района исследования приведена эколого-фаунистическая характеристика жужелиц. Было выявлено 95 видов, относящихся к 28 родам, изучены биоэкологические особенности жужелиц. Определен половой индекс для изученных видов, который имеет индикационное значение, так как он определяет интенсивность размножения и расселения организмов.

Камеральная обработка и исследование генитальных аппаратов имаго позволили установить число самцов и самок доминантных видов: *Pterostichus fornicatus* - 172 самца,

118 самок (30%), *Pterostichus telavense* - 132 самца, 115 самок (26%), *Calathus melanocephalus* - 83 самцов, 115 самок (21%), *Poecilus stenoderus* - 51 самца, 61 самка (12%), *Ophonus nitidulus* - 76 самцов, 34 самки (11%). Динамика половой структуры популяции представляет собой один из элементов гомеостатических популяционных процессов, которые обеспечивают стабильность популяций в изменяющихся условиях.

Работа выполнена в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» ГК №П709.

Биоразнообразие чешуекрылых Чалишского тугайного биоценоза Хорезмского вилаята

Бекчанов Музаффар Худайбергенович

(Институт зоологии АН РУз, Узбекистан, Ургенч, muzaffar86@mail.ru)

Цель настоящей работы – изучение видового состава чешуекрылых Чалишского тугайного биоценоза Хорезмского вилаята. В ходе 9-летних исследований выявлено 113 видов бабочек, относящихся к 75 родам (12 семейств): сем. Nymphalidae: *Vanessa cardui*, *Aglais urticae*, *Nymphalis polychloros*, *Araschnia levana*, *Fabriciana niobe*, *Argynnis lathonia*; сем. Pieridae: *Pieris brassicae*, *P.rapae*, *P.napi*, *Pontia daplidice*, *Colias chrysotheme*, *C. hyale*; сем. Lycaenidae: *Polyommatus icarus*; сем. Zygaenidae: *Zygaena osterodesnis*, *Z. ephialtes*; сем. Sphingidae: *Argius convolvuli*, *Acherontia atropos*, *Hyles euphorbiae*, *H.zygophilly*, *Theretra alecto*, *Laothoe populi*; сем. Noctuidae: *Rhynchodontodes ravalis*, *Catocala elocata*, *C.puerpera*, *C.lupina*, *C.optima*, *C.neonympha*, *Clytie syriaca*, *C.illunaris*, *Pericyma albidentaria*, *Anydrophila imitatrix*, *A.simiola*, *A.mirifica*, *Gonospileia munita*, *Drasteria tenera*, *D.sesquilinea*, *D.caucasica*, *D.flexuosa*, *D.kuznetzovi*, *Anumeta palpangularis*, *A.spilota*, *A. henkei*, *A. cestis*, *A.fractistrigata*, *A.dentistrigata*, *Iranada secunda*, *Armada panaceorum*, *Tarachechia hueberi*, *Pandesma robusta*, *Apopestes spectrum*, *Autophila maculifera*, *A. gracilis*, *Acantholipes regularis*, *Tyta luctuosa*, *Earias chlorana*, *E.chlorophyllana*, *Chrysodeixis chalcites*, *Trichoplusia ni*, *Macdunnoughia confusa*, *Autographa gamma*, *Plusia festucae*, *Glossodice polygramma*, *Eublemma gratiosa*, *Acontia lucida*, *Simyra nervosa*, *Acronicta psi*, *Mycterophus puniceago*, *Heliothis maritima*, *H.viriplaca*, *H.peltigera*, *H.nubigera*, *Helicoverpa armigera*, *Cucullia improba*, *Calophasia lunula*, *Amphipyra tragopoginis*, *Agrotis segetum*, *A.exalationis*, *A.crassa*, *A.lasserrei*, *A.ipsilon*, *Dichagyris flammata*, *D.forficula*, *Noctua orbona*, *Xestia c-nigrum*, *Discestra trifolii*, *D.stigmata*, *D.cociabilis*, *Hadula sabulorum*, *Laconobia splendens*, *L.oleracea*, *L.suasa*, *Mythimna vitellina*, *Leucania zea*, *L.loreyi*, *Mervia kuznetzovi*, *Pseudohadena chenopodiphaga*, *P.immunda*, *Xylena exoleta*, *Platyperigea albina*, *Arenostola semicana*, *Oria musculosa*; сем. Geometridae: *Thetidia smaragdaria*, *Colotois pennaria*, *Cabera pursaria*, *Campaea margaritata*, *Eupithecia linariata*; сем. Notodontidae: *Dicranura vinula*, *D.erminea*; сем. Cossidae: *Cossus cossus*; сем. Tortricidae: *Laspeiresia pomonella*; сем. Arctiidae: *Arctia caja*, *Phragmatobia fuliginosa* и сем. Lasiocampidae: *Malacosoma neusterium*.

Фауна и мониторинг редких и охраняемых видов насекомых природного парка "Донской"

Брехова Дарья Олеговна

(Волгоградский государственный педагогический университет, Россия, Волгоград)

Природный парк «Донской» расположен в Иловлинском районе Волгоградской области. Территория парка включает степные участки, балки, нагорные и байрачные леса, донскую пойму. Целью нашего исследования было изучение видового состава насекомых и оценка численности некоторых редких и охраняемых видов.

Отлов насекомых (ручной, кошением энтомологическим сачком и почвенными ловушками) проводился в 2008-2009 гг. в разных биотопах: берег реки Дон, пойменные луг и лес, степь.

Всего было зарегистрировано 323 вида насекомых из 6 отрядов. Наибольшее число видов относилось к отряду жесткокрылых – 249, это связано с тем, что эта группа насекомых самая большая в регионе и ее представители хорошо попадают в ловушки и при кошении сачком. Перепончатокрылых определено 28 видов, полужесткокрылых – 19, прямокрылых –

15, двукрылых – 8 и стрекоз – 4 вида. Отряд перепончатокрылые в сборах в основном представлен семействами роющих ос (12 видов) и пчелиными (8 видов), клопы – семейством щитников (7 видов), все прямокрылые относятся к саранговому, среди двукрылых удалось определить только представителей семейств жужжал и ктырей.

Наибольшее число семейств (21) определено из отряда жесткокрылых. Максимальное видовое разнообразие было отмечено у жуков (54 вида), долгоносиков (47 видов), листоедов (35 видов), пластинчатоусых (21 вид), усачей (19 видов) и златок (15 видов).

Больше всего видов (142) было отловлено на пойменном лугу. Доминировали жесткокрылые (113 видов) и полужесткокрылые (13 видов). Среди семейств максимальное количество видов относится к долгоносикам (24 вида). На степном участке зарегистрирован 131 вид, из которых 97 видов – жесткокрылые и 18 – перепончатокрылые. Среди семейств больше всего отловлено жуков (18 видов), пластинчатоусых (17 видов), листоедов и долгоносиков (по 16 видов). В пойменном лесу отловлен 51 вид насекомых, из которых 45 – относятся к жесткокрылым. Среди семейств максимальное число видов у жуков (12), златок (6) и земляных клопов (5). Меньше всего видов отловлено на околородном участке (21 вид). 16 видов жесткокрылым и 4 – стрекозы. Среди семейств доминировали жуки (8 видов), листоеды (5) и долгоносики (3).

Всего на территории парка отмечены следующие «краснокнижные виды»: дыбка степная, боливария короткокрылая, красотел пахучий, жук-олень, крупный парнопес, пчела-плотник. Наиболее часто встречались дыбка степная и пчела-плотник. Дыбка отмечается на луговых участках, а также на небольших понижениях в степи и заросших растительностью. Численность на лугах составляла 1-2 экземпляра в среднем на 100 взмахов сачком. Пчела-плотник наблюдается на степных участках в количестве 5-6 экземпляров на 1 км маршрута. Боливария была отмечена один раз в количестве 2 экземпляров на склоне балки. Красотел пахучий и жук-олень (по одному экземпляру) были отловлены в пойменном лесу. Парнопес наблюдается на лугах на цветущих растениях. Всего за 2 года попало 3 экземпляра.

Фауна личинок ручейников (Trichoptera) реки Щербаковка

Гречишникова Татьяна Владимировна

(ГОУ ВПО Волгоградский Государственный Педагогический Университет, Россия, Волгоград, tatyanaGRECHISHNIKOVA@mail.ru)

Ручейники являются одним из основных компонентов природных экосистем, так их личинки играют важную роль в трофической структуре водоемов, являясь ценной пищей для рыб. Несмотря на большое значение ручейников, существует еще много пробелов в их изучении. Целью нашего исследования было изучение видового состава, обилия и распространения ручейников по разным участкам р. Щербаковка.

В ходе проведенного исследования на 21 участке реки было собрано с помощью водного энтомологического сачка 513 личинок ручейников (6 видов из 3 семейств). Наибольшее видовое разнообразие и обилие ручейников по профилю реки нами было зарегистрировано ближе к устью, что возможно свидетельствует о наиболее благоприятных экологических условиях для проживания личинок именно в этом месте.

К описанию энтомофауны Акуловской лесостепи

Кондратьев Александр Александрович

(Ульяновский Государственный Университет, Россия, Ульяновск, kondr2407@yandex.ru)

В Акуловской лесостепи, на относительно небольшой территории, сохранились уникальные степные сообщества, включающие большое количество редких, исчезающих видов насекомых. В ходе проведенного обследования в Акуловской степи с 15 по 27 июня 2007 г. нами были зарегистрированы 568 видов насекомых из 10 отрядов. Из них: 4 вида внесены в Международную Красную книгу, 7 видов - в Красную книгу России и 22 вида - в Красную книгу Ульяновской области. Это *Saga pedo* Pall. (Tettigoniidae, Orthoptera), *Calosoma (s.str.) sycophanta* (L.) (Carabidae, Coleoptera), *Carabus hungaricus* F. (Carabidae, Coleoptera), *Nicrophorus sepultor* Charp. (Silphidae, Coleoptera), *Lucanus cervus* L. (Lucanidae, Coleoptera), *Aphodius exilimanus* Karakov (Scarabaeidae, Coleoptera), *Aphodius (Agrilinus)*

isajevi Kabakov (Scarabaeidae, Coleoptera), *Netocia aeruginosa* Dury (Scarabaeidae, Coleoptera), *Lepidotychius alexii* Korotyayev (Curculionidae, Coleoptera), *Cyphocleonus achates* (Fhrs.) (Curculionidae, Coleoptera), *Ceutorhynchus potanini* Korot. (Curculionidae, Coleoptera), *Distoleon tetragrammicus* F. (Myrmeleontidae, Neuroptera), *Xylocopa valga* Gerstaecker (Apidae, Hymenoptera), *Bombys serrisguama* F. Morawitz (Apidae, Hymenoptera), *Bombus armeniacus* (Pallas) (Apidae, Hymenoptera), *Parnopes grandior* Pallas (Apidae, Hymenoptera), *Pyrgus sidae* Esper. (Hesperiidae, Lepidoptera), *Agrodiaetus damocles* Herrich-Schaffer (Lycaenidae, Lepidoptera), *Protorebia afra* F. (Satyridae, Lepidoptera), *Satyrus virbius* Herrich-Schaffer (Satyridae, Lepidoptera), *Catocala pacta* L. (Noctuidae, Lepidoptera), *Ammobiota festivita* Hufnagel. (Arctiidae, Lepidoptera).

Таким образом, благодаря своей уникальности Акуловская степь должна быть сохранена.

Структура сообщества макрозообентоса канализированного и естественного участка реки Гольша
Липинская Татьяна Петровна

(Государственное научно-производственное объединение «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам», Беларусь, Минск, lipian86@mail.ru)

Проведение мелиоративных работ оказывает глубокое преобразующее воздействие на весь комплекс водных беспозвоночных животных. Комплексное исследование сообщества макрозообентоса каналов малых рек на территории Беларуси не проводилось, что и определило актуальность выбранной темы.

Материалом послужили сборы макрозообентоса на канализированном и естественном участке р. Гольша (река 2-го порядка бассейна Днепра, Могилевская обл.) в октябре 2010 г. Отбор количественных и качественных проб макрозообентоса был проведен по стандарту ISO 7828 с помощью ручного гидробиологического сачка.

В результате проведенных исследований выявлено 39 видов водных беспозвоночных (37 родам, 27 семействам, 6 классам, 4 типам).

На канализированном участке было обнаружено 24 вида макробеспозвоночных, большинство из которых относились к отряду водных клопов (7 видов), число видов из других отрядов не превышало двух. На естественном участке реки (на удалении от канала около 1,5 км) обнаружено 20 видов (6 видов брюхоногих моллюсков и по 4 вида клопов, стрекоз, жуков и др.). Как на естественном, так и на канализированном участке реки наиболее разнообразно в бентофауне были представлены насекомые: 15 и 18 видов, соответственно. Это составило по 75% от общего числа видов макрозообентоса соответствующего участка малой реки.

В трофической структуре бентоса как естественного, так и канализированного участка реки преобладали соскребаты (43.4 и 34.0%, соответственно) и собиратели (42.5 и 41.2%). По отношению к течению преобладали лимно-реофилы (естественный участок – 64.5%, канализированный – 49.6%), т.е. представители бентоса, предпочитающие медленно текущие реки. В канализированном участке реки наблюдали высокую долю лимнофилов (35.9%).

Структура сообщества макрозообентоса на канализированном участке реки отличается от таковой на естественном, что происходит за счет изменения скорости течения, а также гидрохимических параметров воды при канализировании русла.

Клещи – вредители культур закрытого грунта

Патрикеева Мария Владимировна

(МОУ СОШ №8, Россия, Саратов, patrikeevamv@yandex.ru)

Клещи являются опасными вредителями растений в условиях защищенного грунта. Они повреждают растения при питании, открывают доступ для вторичной инфекции бактериального или грибкового происхождения, а также являются переносчиками вирусных фитопатогенов.

Целью нашей работы было изучение видового состава клещей, развивающихся в условиях защищенного грунта в г. Саратов. Выявлено, что эта группа вредителей немногочисленна по видовому составу и ее представители относятся к 4 семействам. Зарегистрировано 5 видов клещей: луковый корневой клещ *Rhizoglyphus echinopus* F. et R. (сем. *Acaridae*) на луке луке и цветочных лилейных культурах; цитрусовый клещ плоскотелка *Brevipalpus phoenicis* Geijskes (сем. *Tenuipalpidae*) и красный цитрусовый клещ *Panonychus citri* McGregor (сем. *Tetranychidae*) – на лимоне; ржавый томатный клещ *Aculops (=Vasates) lycopersici* Massee (сем. *Eriophyidae*) – на томате; обыкновенный паутинный клещ *Tetranychus urticae* Koch (сем. *Tetranychidae*) – на овощных и цветочно-декоративных культурах.

Доминирующим видом оказался *T. urticae*, который является полифагом. В теплицах нашего города предпочитает развиваться на огурце, томате и розе. Защита растений от этого вредителя строится на регулярном (каждые 3-5 суток) проведении фитосанитарных обследований теплиц. При обнаружении очагов вредителя применяют биологические или химические методы борьбы. В качестве биологического агента методом сезонной колонизации широко используется хищный клещ *Phytoseiulus persimilis* Ath.-H. При необходимости проводят обработки инсектицидами, разрешенными к применению в защищенном грунте: Актеллик 50% кэ, Фуфанон 57% кэ, Клипер 10% кэ, Фитоверм 1% кэ.

Влияние высотной поясности и экспозиции склонов на почвенную фауну (на примере Хибинского горного массива, Кольский п-ов)

Полярская Виктория Викторовна
(ИППЭС КНЦ РАН, Россия, Анапты)

Проведено сравнение численности и таксономического состава беспозвоночных животных в почвах высотных поясов (горно-таежного, горно-лесотундрового, горно-тундрового) на склонах разной экспозиции трех гор Хибинского горного массива: Вудьяврчорр, Ловчорр и Поачвумчорр. Перечисленные горно-растительные пояса представлены соответственно: еловым редкостойным лесом, березовым кривоствольным лесом, тундрой кустарничково-лишайниковой. За период 2008-2010 гг. исследовано 14 биоценозов.

В почвах северо-восточного склона горы Вудьяврчорр выявлено 15 таксонов, южного склона горы Ловчорр – 19, южного склона горы Поачвумчорр – 23. Общими для высотных поясов всех гор были представители 6 таксонов: энхитреиды, пауки, двукрылые, мягкотелки, жужелицы, стафилиниды. Численность беспозвоночных варьировала от 130 до 800 экз./м² при наименьших значениях в тундровом поясе всех гор и наибольших – в лесных (таежном и лесотундровом) поясах.

Сходство фаунистических комплексов по таксономическому составу и численности беспозвоночных оценивали с помощью индекса общности Сьеренсена K_s для количественных данных. Установлено уменьшение фаунистического сходства в ряду: соседние горно-растительные пояса в пределах одного склона одной горы → одноименные горно-растительные пояса на разных склонах одной горы → одноименные пояса на разных горах. Наибольшее сходство таксономического состава и численности беспозвоночных было характерно для горно-лесных поясов ($K_s=0.43-0.75$) и горно-лесных с тундровыми ($K_s=0.40-0.73$), тогда как сходство между горно-тундровыми составляло лишь 0,28-0,41. Это объяснялось фаунистическим своеобразием тундровых местообитаний каждой из гор.

Влияние экспозиции склона выражалось в увеличении периода сезонной активности беспозвоночных и повышении численности и биомассы сапрофильного блока на южных, более прогреваемых, склонах гор по сравнению с северо-восточными склонами.

Формирование фауны почвенных жесткокрылых (*Coleoptera*) в условиях изменчивости рельефной структуры речной поймы
Полежаева Анна Юрьевна

(Костромской государственной университет им. Н.А. Некрасова, Россия, Кострома)

Целью работы явилось изучение закономерностей формирования и распределения почвообитающих жесткокрылых в условиях изменчивости рельефной структуры речной поймы. Сбор материала производился в течение летнего сезона 2010 г. на участке поймы р. Сендеги в ее среднем течении (окрестности п. Караваево Костромской области).

Всего было зарегистрировано 65 видов жесткокрылых: 46 видов жуков, 14 видов – стафилинов; 4 вида мертвоедов и 1 вид нарывников. Наибольшее число видов (39) отмечено в зоне бечевника. При удалении от русла видовое богатство постепенно снижается. Общая численность почвенных жесткокрылых увеличивается по ходу от уреза воды пропорционально снижающемуся видовому разнообразию.

В бечевнике и на береговом валу доля доминантов минимальна – 10,3%. С переходом к верхней пойме их значение увеличивается приблизительно в два раза. Кроме того, в бечевнике при низкой доле доминантов наблюдается самое высокое значение числа редких видов – 54,4%.

Тенденция изменения состава жизненных форм семейства жуков, по мере удаления от реки, такова: поверхностно-подстилочные стратобионты (*Loricera pilicornis* F., *Platynus assimilis* Pk., и др.), доминирующие на территории бечевника (50,3%) резко снижают свое значение в последующих элементах поймы и практически исчезают на территории надпойменной террасы. Напротив, стратобионты подстилочные (*Patrobus assimilis* Chaud. и

Trechus secalis Pk.) увеличивают свою долю при переходе от околородной зоны (бечевник) к высокой пойме и надпойменной террасе (от 9,1% в бечевнике до 30,6% в надпойменной террасе). Стратобионты подстильно-почвенные (*Pterostychnus melanarius* Ill., *Poecilus cupreus* L., *Pterostychnus nigrita* Pk. и др.) с доминирующей позиции на территории бечевника переходят в категорию редких на береговом валу, заболоченном тыловом шве и надпойменной террасе. Доля эпигеобионтов (*Carabus nemoralis* Müll., *C. hortensis* L., *C. granulatus* L. и др.) в экосистеме поймы р. Сендеги также велика – 12,8% от общего числа жизненных форм, но их процент при переходе от одной формы рельефа к другой меняется незначительно.

Паразитофауна экзотических животных в Алтайском крае

Политова Екатерина Олеговна

*(Алтайский государственный аграрный университет, Россия, Барнаул,
politova_8@mail.ru)*

В настоящее время стало популярным заводить экзотических животных (черепах, енотов, хорьков, пауков, обезьян и т.д.) Цель нашей работы было изучение паразитофауны экзотических животных в Алтайском крае. Работа выполнялась на кафедре паразитологии и организации ветеринарного дела Института ветеринарной медицины Алтайского государственного аграрного университета в период с сентября 2009 г по январь 2011 г.

Всего было исследовано 54 животных, являющихся представителями классов пресмыкающихся, птиц и млекопитающих. Среди пресмыкающихся это были среднеазиатские черепахи, королевские питоны и удав. Среди птиц – попугаи розелла, корелла, неразлучник розовощекий, неразлучник Фишера, волнистый, ожереловый и амарин, а среди млекопитающих – крысы, морские свинки, белки, хомяки, дикобраз, мышь игольчатая, шиншилла, хорьки, носуха, мустанг, мангуст, енот, обезьяны (игрунки), макаки (резус и яванская), лори (толстый) и декоративные кролики. Мы использовали методы прижизненной и посмертной диагностики. Для прижизненной диагностики на гельминтозы и ооциты простейших использовались методы: гельминтоскопии и гельминтовооскопии. В посмертной диагностике использовали: метод ПГВ (полного гельминтологического вскрытия) и метод последовательных промываний.

Результаты исследования показали, что наибольшая заражённость паразитами (нематодами *Oxurata*, *Spirurata*, *Ascaridata*) была характерна для пресмыкающихся

(особенно для черепах). Широко распространены нематоды (Oxurata и Strongilata) и среди декоративных грызунов (крыс, хомяков и морских свинок). Необходимо отметить, что обнаруженные нами гельминты для человека не опасны.

Материалы к фауне рода *Carabus* (Coleoptera: Carabidae) Саратовской области

Сажнев Алексей Сергеевич

(Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова,
Агрономический факультет, Россия, Саратов, sazh@list.ru)

Род *Carabus* является одним из крупнейших в семействе жужелицы. Некоторые виды жужелиц обладают обширными ареалами и распространены в пределах нескольких природных зон. Все виды рода - хищники с внекишечным пищеварением, обитатели лесов, лугов и степей. Собственные исследования, а также изучение музейных и частных энтомологических коллекций и литературных источников позволили нам получить новые сведения о распространении ряда видов, исправить ошибки в номенклатуре подвидов, указанных для территории региона ранее, удалось дополнить список рода для Саратовской области двумя новыми видами: *Carabus arcensis* ssp. *baschkiricus* Breuning, 1936 – ранее рассматривался, как возможный для области вид, найден в Саратове, и *C. hortensis* Linné, 1758, отмечен в Татищевском районе области. Ранние указания на *C. sibiricus haeres* Fischer von Waldheim, 1823 для Саратовской области были перепроверены, установилось, что все экземпляры следует относить к *C. sibiricus karelini* Fischer von Waldheim, 1830. Однако в литературе нами найдено указание подвида *haeres* с пометкой «Saratov». Непонятным было положение подвидов *C. bessarabicus* Fischer von Waldheim, 1823 в Нижнем Поволжье. Считалось, что зона интерградации подвидов проходит условно по Дону. Н.С. Каложная с соавторами указывали номинативный подвид для Ростовской и Волгоградской областей, на чем ранее было основано предположение о возможном нахождении номинативного подвида и в Саратовской области. Но учитывая современные работы В. Brezina, В. Lassele, ареал номинативного подвида охватывает Молдавию, юг Украины, Крым, и в Саратовской области не возможен, хотя и встречаются особи, внешне напоминающие ssp. *bessarabicus*, их стоит относить к ssp. *concretus* Fischer von Waldheim, 1823 и переходным формам, топотипам, которые также стоит называть «*concretus*». Весьма сомнительно указание в литературе западноевропейского вида *C. coriarius*. Для Саратовской области он ранее не отмечался, скорее всего, в сборах экземпляры представлены другим, внешне немного похожим, видом – *C. glabratus* Paykull, 1790.

Таким образом, в настоящее время фауна рода *Carabus* Саратовской области насчитывает 13 достоверно известных видов, что не является окончательной цифрой, и на наш взгляд для региона стоит ожидать нахождение новых таксонов.

Жуки стафилиниды (Coleoptera, Staphylinidae) прибрежной зоны водоемов Смоленской области

Семионок Олег Игоревич

(Смоленский Государственный Университет, Россия, Смоленск,
Semionkov67@rambler.ru)

Жуки семейства Staphylinidae, живущие по берегам водоемов Смоленской области, изучены недостаточно. Береговые комплексы стафилинид чрезвычайно динамичны и разнообразны по видовому составу, что обуславливает их роль в экосистемах. Видовая идентификация представителей семейства во многих случаях затруднена и требует привлечения специалистов узкого профиля.

Территория Смоленской области входит в бассейны Балтийского, Черного и Каспийского морей. Большая ее часть (57%), относящаяся к бассейну Черного моря, дренируется Днепром и его притоками. Остальная территория Смоленской области расположена в бассейнах Западной Двины (на северо-западе), Волги (на северо-востоке) и Оки (на юго-востоке).

Целью нашей работы было составление фаунистического списка, а также выявление приуроченности отдельных видов стафилинид к различным биотопам, посредством комплексного обследования берегов водоемов на территории Смоленской области.

Исследования проводились с апреля по ноябрь 2009 – 2010 года. Обследовались берега рек и озер. Была предпринята попытка классифицировать берега водоемов по степени зарастания и механическому составу почвы. Всего нами выделено 6 основных типов: песчаный открытый, песчаный зарастающий, глинистый открытый, глинистый зарастающий, галечный и заболоченный зарастающий. Сбор материала производился следующими методами: установка почвенных ловушек Барбера с фиксирующей жидкостью (4% формалин), отбор почвенно-подстилочных проб на мезофауну с помощью набора стандартных почвенных сит, флотация, выгонка жуков путем заливания водой открытых участков берега. Материал монтировался и этикетировался. Для большинства экземпляров изготовлены препараты гениталий.

Всего нами было собрано 256 видов из 8 подсемейств стафилинид. Были выявлены существенные различия в фаунистическом составе и экологической приуроченности жуков – стафилинид, обитающих по берегам рек и озер Смоленской области. В дальнейшем, исследованиями будут охвачены и другие водоемы различных типов на территории области, что позволит расширить фаунистический список и выявить закономерности распределения прибрежных видов стафилинид.

Особенности экологии амбарного и рисового долгоносиков в Дагестане

Фатулаева Диана Фатулаевна

(Дагестанский государственный университет, Россия, Махачкала, tma1313@yandex.ru)

Особое место среди вредителей продовольственных запасов занимают амбарный (*Sitophilus granarius*) и рисовый (*S. oryzae*) долгоносики.

Проведенные исследования свидетельствует о широком распространении амбарного и рисового долгоносиков в Дагестане: пораженные жуками продукты обнаружены во всех районах, однако на низменности живые и размножающиеся жуки в продуктах встречались в течение всего года, предгорных и внутренигорных районах - только в весенне-летний период, а в горных и высокогорных, где температура по ночам даже летом не поднимается выше 12-15°C, обнаруживались мертвые жуки и жуки в состоянии диапаузы. Долгоносики найдены в зернохранилищах, на мельницах, в складах на предприятиях производства хлеба и хлебобулочных изделий и т.д. Имаго были найдены также в сухарях, пряниках, сушеных яблоках и кураге, в которых личинки не развиваются. Летом 2010 г. жуки были впервые обнаружены в Дагестане в открытой природе (Кизляр, рисовые поля; Дербент, огород).

Сильное поражение продуктов наблюдалось с апреля по октябрь месяцы, особенно прошлогодних зерновых и старых продуктах, с которых жуки быстро переходят на незараженные продукты, даже прогрызая упаковку. Распространение происходит вместе с зараженными продуктами, тарой и упаковочным материалом. Для борьбы можно использовать экологически безопасные методы: очистку, с последующей сушкой, охлаждением и промораживанием, обработку жаром или паром. Отпугивающими свойствами обладают смола, деготь, камфара, полынь, лаванда.

Фауна насекомых природного парка Щербаковский

Цаплина Марина Владимировна

(Волгоградский государственный педагогический университет, Россия, Волгоград)

Природный парк «Щербаковский» располагается на севере Волгоградской области. Энтомофауна парка еще слабо изучена. Крупных населенных пунктов по близости нет, следовательно, сила антропогенного воздействия на эту территорию невысока. Исходя из выше сказанного, целью нашего исследования было изучение видового состава насекомых на территории природного парка Щербаковский.

Природный парк «Щербаковский» — парк, расположенный на территории Камышинского района Волгоградской области. Он создан в 2003 году. Одними из

крупнейших водотоков парка являются р. Щербаковка и р. Добринка. В изучаемых долинах рек мы выделили 20 участков, 14 из которых было на реке Щербаковка, а 6 – на реке Добринка.

При проведении исследований нами использовались стандартные методы сбора насекомых: кошение энтомологическим сачком, метод почвенных ловушек Барбера и ручной сбор.

Всего в результате нашего исследования было собрано 720 экземпляров насекомых 93 видов, принадлежащих к 9 отрядам. Самым многочисленным по числу и распределению видов на участках был отряд жесткокрылые, а самым большим по числу видов было семейство жужелиц.

Частота встречаемости видов приблизительно одинакова. В лесу нами было отловлено 144 особи, по склонам балки было поймано 74 особи, на лугу было встречено 479 особей.

Установлено, что комплекс напочвенных насекомых – обитателей открытых участков в районе исследований характеризуется высоким видовым разнообразием. Нами был изучен видовой состав и выявлены преобладающие группы открытых степных участков.

Спермиогенез бескишечной турбеллярии *Convoluta convoluta* (Acoela)

Чернова Екатерина Евгеньевна, Заботин Я.И.

(Казанский (Приволжский) федеральный университет», Россия, Казань, chern.ekaterina@gmail.com)

Convoluta convoluta является типичным представителем бескишечных турбеллярий. При выяснении важных вопросов эволюции Acoela и систематического положения широко используются ультраструктурные особенности спермиев. В данной работе нами впервые представлены данные по процессу спермиогенеза.

Спермиогенез Acoela происходит следующим образом: жгутики перед слиянием со сперматидой поворачиваются на 180° (как у всех турбеллярий), в то же время ядро мигрирует в другой конец спермия. Наиболее ранние из обнаруженных нами сперматоцитозы являются крупными и округлыми клетками, цитоплазма которых заполнена многочисленными митохондриями и диктиосомами комплекса Гольджи. Затем в более зрелых сперматоцитах образуется аксиальный цилиндр и два свободных жгутика. Если в начале спермиогенеза кинетосомы располагаются вблизи ядра, то в ходе дальнейшего развития жгутики погружаются в цитоплазму таким образом, что их кинетосомы остаются в дистальной части будущего сперматозоида. Такое положение жгутиков называется инвертированным. В сперматиде аксиальный цилиндр распадается на два ряда микротрубочек, располагающихся между ядром и аксонемами полукругом. Остальные микротрубочки мигрируют к периферии, занимая кортикальное расположение. В ходе изучения процесса спермиогенеза нами был обнаружен короткий участок аксонемы с формулой 9+2 (формула аксонемы зрелого спермия 9+0) в дистальном отделе. Эта особенность проявляется перед стадией миграции ядра в проксимальный отдел сперматозоида. Таким образом, нами впервые представлен процесс спермиогенеза *C. convoluta*, подтвержден факт инвертированного положения жгутиков.

Биотопические группы фауны ленточниц *Catocalinae* Нижне-Амударьинского округа, нижних частей Зерафшанской долины и Шахрисабзско-Китабской впадин

Явкачев Давронбек Азатович

(Ургенчский государственный университет имени Ал-Хорезми, Узбекистан, Ургенч, yadavron@mail.ru)

Цель настоящей работы – определение ландшафтно-биотопических приуроченности представителей ленточниц *Catocalinae* Нижне-Амударьинского округа, нижних частей Зерафшанской долины и Шахрисабзско-Китабской впадин. Исследования были проведены в 2005-2009 гг.

По преимущественной биотопической приуроченности имаго выявленных видов ленточниц *Catocalinae* выделены следующие основные группировки:

1. Тугайная – *Catocala optima*, *C.nupta*, *Dysgonia rogenhoferi*, *Drasteria tenera*, *C.sp I*, *C.sp II*, *Catocala elocata*, *C. puerpera*, *C.lupina*, *C.neonympha*, *C.electa*, *C.hymenaea*, *C.deducta*, *C.orientalis*, *Drasteria sesquilina*, *D. kusnezovi*, *Pandesma robusta*, *Euclidia munita*

2. Тугайно-пустынная - *Tyta luctuosa*, *Catocala lesbia*, *Drasteria aberrans*, *D.caucasica*, *D.flexuosa*, *Clytie syriaca*, *C.illunaris*, *Clytie gracilis*, *Pericyma albidentaria*, *Dysgonia algira*, *Anumeta spilota*, *A. henkei*, *A.cestis*, *A.fractistrigata*, *Autophila maculifera*, *A.gracilis*, *Iranada secunda*, *Tarachephia hueberi*, *Armada panaceorum*.

3. Пустынная – *Protodis stolidus*, *Drasteria sesquistris*, *D.picta*, *D.cailino*, *D.rada*, *D.saisani*, *D.herzi*, *D.sinuosa*, *Clytie delunaris*, *C.distincta*, *C.terrulenta*, *C.sp*, *Pericyma squalens*, *Anydrophila imitatrix*, *A.mirifica*, *A. simiola*, *Heteropalpia profesta*, *Euclidia glyphica*, *E.mi*, *E.triquetra*, *Aropestes spectrum*, *Lygephila crassae*, *L.lubrica*, *Anumeta palpangularis*, *A.dentistrigata*, *A.fricata*, *A.atrosignata*, *A.cestina*, *Autophila limbata*, *A. subfusca*, *Rivula sericealis*, *Metoponrhis albirena*, *Armada clio*, *Epharmattomena nana*, *Metopistis erschoffi*, *Drasteroides limata*

4. Горно-степная – *Aropestes centralasiae*, *Autophila ligaminosa*, *A.chamaephans*, *A.hirsuta*, *A. libanotica*, *A. asiatica*

5. Горная – *Catocala artobolevskiji*, *C.desiderata*, *Euclidia fortalitium*, *Acantholipes regularis*

Более половины из выявленных видов относятся к обитателям песчаных зон. Среди них видовыми богатствами отличаются роды *Drasteria* (7 видов) и *Anumeta* (5). Малочисленными по видовому составу являются горные и горно-степные виды. Среди тугайных видов доминируют ленточницы из рода *Catocala* (12 видов), из них *C. elocata* широко распространено в антропогенных ландшафтах.

ПОДСЕКЦИЯ «ЗООЛОГИЯ ПОЗВОНОЧНЫХ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Иерархическая организация и временные характеристики пения восточного соловья (*Luscinia luscinia* L.)

Антипов Владислав Анатольевич

(Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, vladantipov@yandex.ru)

Цель работы – выяснить структуру и временные характеристики пения самцов восточного соловья в природе. Песни записывали в мае-июне 2010 г. в Москве у 16 самцов. У 10 из них длительность непрерывного пения («вокальной сессии») составила более 10 минут. У всех особей регистрировали длительность отдельных песен и пауз в пределах вокальной сессии и классифицировали минимальные песенные единицы («нотные комплексы» в песне), имеющиеся в ее пределах. У 10 соловьев с вокальной сессией более 10 мин мы фиксировали общее число каждого вида выделенных нотных комплексов за всю длину сессии, и долю каждого вида среди всех зарегистрированных у данного самца комплексов. Полагали, что средняя длина песни и паузы, а также частота встречаемости отдельных нотных комплексов в пределах вокальной сессии, будет отличаться у разных самцов. Длина песни 2-12 с, в среднем 6 ± 2 с, длина пауз 0,5-18 с, в среднем 3 ± 2 с. Иногда 2-3 песни сливались, достигая общей продолжительности 18-19 с. Значимо длины отдельных песен и пауз не отличались у разных особей ($p > 0,05$), и не коррелировали между собой. Всего у 16 самцов было выделено 84 вида нотных комплексов. При анализе песен 10 соловьев с длительными сессиями выявили, что самцы имеют «предпочитаемые комплексы», доля которых выше и в пределах вокальной сессии этой особи, и сравнительно с встречаемостью этого «нотного комплекса» среди других самцов. В пределах одной сессии изменчивость начала песен («запевок») выше, чем основной части и состоящей в основном из щелчков «концовки». Также отдельные комплексы одинаково часто встречались у всех соловьев. Чем больше комплексов встречалось в вокальной сессии конкретного самца, тем больше у этой особи было уникальных для нее комплексов. Но порядок следования комплексов друг за другом сходен у разных особей – они образуют «упаковки». Все комплексы можно сгруппировать в 22 типа песен, почти не отличающихся у всех самцов. Типы песен также группируются в устойчивые конструкции более высокого ранга. Значит, у восточного соловья есть иерархическая организация пения, а самцы имеют личные предпочтения в пении при относительно небольшом разнообразии типов песен.

Роль гетерохроний в морфологической дивергенции больших африканских усачей оз. Тана (Эфиопия) (*Labeobarbus*; Cyprinidae; Teleostei).

Борисов Василий Борисович¹, Шкиль Ф.Н.²

(¹ИПЭЭ им. Северцова РАН, ²ИБР им. Кольцова РАН, Россия, Москва, v.borisov.sev@gmail.com)

Большие африканские усачи р. *Labeobarbus* оз. Тана (Эфиопия) отличаются высоким морфологическим разнообразием и формируют пучок видов, т.е. группу симпатрических близкородственных видов/форм, обитающих на ограниченной территории. Предполагается, что видом-основателем данного пучка является широко распространенный в северо-восточной Африке вид *L. intermedius* sensu Banister, 1973, и возраст пучка составляет не более 15 000 лет. Одним из возможных механизмов столь быстрой дивергенции усачей являются гетерохронии, т.е. относительные изменения темпов и сроков развития, приводящие к изменениям в дефинитивной морфологии. Предполагается, что раносозревающий *L. brevicephalus* является педоморфным видом, а ряд хищных видов усачей, таких как *L. macrophthalmus* и *L. megastoma* пераморфны относительно предковой формы - *L. intermedius*. Целью настоящей работы стал сравнительный анализ темпов и сроков развития черепа, т.к. форма и пропорции головы являются основными диагностическими признаками усачей оз. Тана. Материалом исследования

послужили личинки и молодь 4 видов усачей (*L. brevicephalus*, *L. intermedius*, *L. macrophtalmus* и *L. megastoma*), полученные в результате скрещивания выловленных в природе производителей и выращенные в стандартных условиях. Оценка темпов и сроков формирования черепа производилась на дифференциально окрашенных и просветленных препаратах. В результате было показано, что на ранних этапах развития черепа усачей существуют два пика активного остеогенеза, разделенных периодом стазиса – стадией, когда не происходит появления новых окостенений, но продолжается рост уже появившихся костей. Однако, продолжительность стазиса неодинакова для разных видов. У предполагаемой педоморфной формы *L. brevicephalus* происходит значительное сокращение стазиса по сравнению с предковой формой. В тоже время, у двух предполагаемо пераморфных видов - *L. macrophtalmus* и, особенно, *L. megastoma* происходит увеличение периода стазиса. Кроме того, были обнаружены межвидовые различия в последовательности появления костей черепа. Таким образом, в онтогенезе черепа больших африканских усачей оз. Тана были обнаружены гетерохронии, которые могут лежать в основе формирования высокого морфологического разнообразия данного пучка видов.

Исследование поведения летяги обыкновенной (*Pteromys volans*) в искусственно

созданной вольерной группе

Жукова Александра Сергеевна, Мамонтова А. В., Половицкая М. М., Пустовит К.Б.

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, sashkazhukovka@mail.ru)

Цель работы - исследование поведения взрослых и молодых летяг в искусственно созданной группе. Были поставлены следующие задачи: выделить формы поведения летяг, сравнить динамику разных форм поведения взрослых и молодых животных в течение периода наблюдения, пронаблюдать за контактами летяг различных возрастных групп, количественно оценить преобладание различных форм активности и типов контактов. В работе использовано 6 взрослых зверьков, отловленных в лесном массиве ЗБС, и 8 молодых зверьков, рожденных предположительно в конце апреля 2010г. от взрослых самок в вольере. Наблюдения проводились с 21.06.10 по 24.06.10 в ночное время с 21:30 до 04:30. Было выяснено, что бюджет времени в разных возрастных группах летяг складывается из одних и тех же форм поведения. Выявлена динамика пяти форм активности, из которых две (комфортное поведение и кормовая активность) достоверно различаются по времени у взрослых и молодых животных ($p < 0,01$). В двигательной активности наблюдается неравномерное распределение в течение ночи с увеличением в начале и в середине. У взрослых животных отмечено проявление «навязчивого двигательного стереотипа», появляющегося у содержащихся в неволе млекопитающих. Кроме того, намечается тенденция к преобладанию двигательной активности у взрослых летяг по сравнению с молодыми. Социальные взаимоотношения молодых и взрослых летяг заключаются в частых контактах. Внутри групп животных одного возраста они преобладают в группе молодых, между группами разного возраста значимо преобладают контакты, инициированные взрослыми ($p < 0,05$). Выявленные различия биологически оправданы с одной стороны особенностями развития молодых животных (повышенная потребность в пище, несовершенство шерстного покрова, установление социализации), а с другой стороны высокой плотностью группы.

Зона вторичного контакта западной (*Phylloscopus trochiloides viridanus*) и восточной (*Phylloscopus plumbeitarsus*) зеленых пеночек

Ковылов Николай Сергеевич

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, mrna89@mail.ru)

Надвидовой комплекс зеленой пеночки (*Phylloscopus trochiloides*) на данный момент считается лучшим примером кольцевого видообразования у птиц. В Центральной Сибири обнаружена зона симпатрии терминальных видов «кольца» – западной и восточной зеленых пеночек. В предыдущих работах не было найдено никаких доказательств интрогрессии по

акустическим и молекулярным данным. Основной причиной возникновения изолирующего барьера между видами считаются сильные отличия в вокализации самцов. Самцы не распознают пение неконспецифика, что подтверждает реальность существования этологического предкопуляционного барьера. Однако существует иная точка зрения, согласно которой формы не столь далеки друг от друга

Полевые исследования в зоне симпатрии мы проводили с 28 мая по 16 июля 2009 года в Красноярском крае, а в аллопатрических частях ареала с 14 по 26 мая в Москве и её окрестностях и с 15 по 27 июня 2010 года в пос. Чегдомын Хабаровского края. Мы записывали пение самцов, затем отлавливали их при помощи звуковой ловушки для морфологического описания и взятия крови. В общей сложности нами было отловлено и записано для анализа 110 самцов. В работе использованы записи Фонотеки Голосов им. Б.Н. Вепринцева, а также исследованы тушки из коллекции Зоологического Музея МГУ.

По нашим данным выборки из аллопатрических частей ареалов двух форм однородны: обнаружены фенотипически «чистые» западные и восточные зеленые пеночки. Однако в зоне симпатрии обнаружен целый спектр промежуточных фенотипических вариантов, касающихся окраски и некоторых морфометрических показателей. Пение восточной и западной форм сильно отличается по синтаксическим и частотным характеристикам. Но в зоне симпатрии наблюдается исчезновение значимых отличий по частотным характеристикам. Впервые в Красноярском Крае удалось записать «миксингеров» - самцов со смешанным пением. Была выявлена стойкая положительная реакция самцов западной форм на песню неконспецифика.

Полученные результаты заставляют усомниться в существовании жесткого барьера между формами. Напротив, обнаружение птиц с промежуточными фенотипическими признаками и «миксингеров» позволяет предположить наличие интрогрессии в зоне симпатрии и тем самым поставить под сомнение гипотезу кольцевого ареала у зелёной пеночки.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ (проект № 10-04-00483). Автор выражает благодарность научным руководителям Маровой Ирине Михайловне, Федорову Вячеславу Владимировичу, Иванцкому Владимиру Викторовичу, дирекции и сотрудникам заповедников «Столбы» и «Буреинский», а также сотрудникам отдела Орнитологии Зоологического музея МГУ и её куратору Ярославу Андреевичу Редькину за всестороннюю помощь.

Признаки пола и индивидуальности в ротовых и носовых звуках детенышей джейрана (*Gazella subgutturosa*)

Лапшина Екатерина Николаевна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, lapshina_acoust@mail.ru)

Акустический канал играет важную роль в коммуникации копытных для поддержания пространственной близости между матерью и детенышем и стимуляции родительской заботы. Однако не у всех видов копытных звуки детенышей содержат признаки, позволяющие матерям отличать своих детенышей от чужих или различать пол детенышей. Помимо коммуникации мать-детеныш, самцы копытных используют звуковые демонстрации во время гона для повышения своего репродуктивного успеха. Гонные крики самцов отпугивают самцов-соперников и привлекают самок. Вокальное поведение во время гона характерно только для самцов, и предпосылки к нему могут проявляться у самцов уже в раннем вокальном онтогенезе. Однако половая изменчивость в звуках детенышей копытных изучена слабо. Мы провели сравнительный анализ индивидуальной и половой изменчивости в 483 носовых и 480 ротовых звуках детенышей джейрана (9 самцов и 11 самок) в возрасте от 3 до 6 недель. Также, было проведено сравнение индивидуальной и половой изменчивости разных типов звуков. Было проведено шесть разных сеансов дискриминантного анализа, по три для носовых и ротовых звуков, с включением трех разных наборов акустических параметров. Один набор включал только параметры, отражающие значения резонансных частот вокального тракта (формантных частот). Второй

набор включал параметры основной частоты, длительности и энергетического спектра звуков. Третий набор включал все измеренные параметры. Значения ни одного из акустических параметров не показали корреляций с весом тела детенышей. Значения всех акустических параметров были выше в ротовых звуках по сравнению с носовыми. И ротовые и носовые звуки имели хорошо выраженные половые и индивидуальные особенности, потенциально достаточные для того чтобы обеспечивать распознавание своих и чужих детенышей матерями. Индивидуальные особенности были основаны на всем наборе измеренных акустических параметров, тогда как признаки пола – исключительно на параметрах формантных частот. Индивидуальные особенности в ротовых звуках детенышей были представлены сильнее по сравнению с носовыми. Потенциально это позволяет детенышам джейранов делать звуки более индивидуально различимыми за счет большего использования ротовых звуков по сравнению с носовыми.

Исследование поддержано РФФИ (грант 09-04-00416).

Онтогенез черепа хвостатых амфибий и роль тиреоидных гормонов в его регуляции.

Меркулова Ксения Михайловна

(Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Россия, Москва, merkulova-kseniya@rambler.ru)

Тиреоидные гормоны (ТГ) играют важную роль в онтогенезе и жизнедеятельности амфибий. Показано их влияние на многие процессы, однако роль ТГ в регуляции онтогенеза черепа – важной для филогенеза и систематики хвостатых амфибий структуры - осталась малоизученной. Искусственно изменяя уровень ТГ в плазме крови (повышая экзогенным ТГ и понижая гойтрогеном), исследовали роль ТГ в регуляции морфогенеза черепа у представителей примитивного (*Hynobiidae*), «промежуточного» (*Ambystomatidae*) и эволюционно-продвинутого (*Salamandridae*) семейств *Urodela*. Обнаружено, что независимо от экспериментальных условий и филогенетического положения амфибий, кости, появляющиеся на ранних стадиях онтогенеза, не реагировали на изменение уровня ТГ. Окостенения средне-личиночных стадий проявляют некоторую реакцию на изменение ТГ уровня, тогда как максимальная реакция характерна для костей, формирующихся ближе к метаморфозу, и для метаморфных преобразований черепа. Соответственно, окостенения различаются по степени зависимости от ТГ: начальные этапы развития черепа свободны от влияния ТГ; окостенения средне-личиночных стадий проявляют частичную ТГ–зависимость, которая возрастает по мере перехода к более поздним стадиям развития. Окостенения поздне-личиночных стадий и метаморфные преобразования черепа - наиболее ТГ-зависимы. Сходная тенденция прослеживается в морфогенезе отдельных окостенений. В процессе развития кости её ТГ-зависимость меняется: на ранних стадиях морфогенеза кость может быть индифферентна к гормону, но становится ТГ-зависимой на более поздних стадиях. Из-за разной реакции костей на воздействие ТГ в различных экспериментальных условиях меняется порядок появления костей, который считается строго видоспецифичным. Под воздействием высоких доз ТГ соседние окостенения срастаются, а замедление темпов развития при дефиците ТГ приводит к увеличению количества краниальных элементов в результате самостоятельной кальцинации отдельных закладок кости. Как следствие, искусственное изменение темпов развития приводит к изменению дефинитивной морфологии черепа. У разных видов одни и те же окостенения различаются по степени зависимости от гормона: эта зависимость возрастает при переходе от примитивных к эволюционно-продвинутым амфибиям. Параллельно усилению роли ТГ снижается роль межклеточных взаимодействий в регуляции развития черепа. Таким образом, в онтогенезе и филогенезе хвостатых амфибий возрастает роль ТГ в регуляции развития черепа и уменьшается роль межклеточных взаимодействий.

Сезонность использования пойменных биотопов воробьиными птицами енисейской средней тайги

Морковин Антон Алексеевич

*(Институт проблем экологии и эволюции РАН им. А.Н. Северцова, Россия, Москва,
a-morkovin@yandex.ru)*

Закономерности биотопического распределения птиц в гнездовое время представляют большой интерес для изучения миграционных стратегий и биотопической пластичности видов. В 2008-2009 гг. мы изучали сезонные изменения обилия воробьиных птиц в местообитаниях среднетаежной поймы р. Енисей (окрестности с. Мирное, Туруханский район Красноярского края) в период с конца мая по конец сентября. Материалом послужили результаты регулярных маршрутных учётов и картирования гнездовых участков 62 видов на 4-км профиле, пересекающем пойму.

Межвидовые сравнения учетных данных и использование методов экологической ординации позволили выделить четыре блока видов, различных по стратегии сезонного использования местообитаний поймы. Эти группы хорошо соответствуют четырем основным типам гнездовых местообитаний региона, которые различаются сезонной динамикой кормовых ресурсов птиц. Вторичные лесные и полуоткрытые биотопы (гари, зарастающие луговины) характеризуются значительным, но кратковременным пиком обилия беспозвоночных. В пойменных местообитаниях этот пик выше и продолжительнее, но в низкой пойме он запаздывает из-за половодья. Тайга отличается пониженной и растянутой продукцией животных и растительных кормов.

Виды низкой (камышевка-барсучок, камышовая овсянка) и высокой (таловка, сибирский дрозд) поймы с прилёта до отлёта используют наиболее благоприятные местообитания во время сезонного пика обилия животных кормов. Виды вторичных биотопов (зарничка, темнозобый дрозд) используют сезонный максимум их продуктивности для гнездования, а затем могут перемещаться в более богатые пойменные биотопы, особенно — в низкую пойму, замещая рано отлетающие местные виды. Во время кочевок в пойме в массе появляются и таяевские птицы (синехвостка, московка), но большая часть их популяций остается в характерных видовых биотопах.

Таким образом, адаптация к определенному гнездовому местообитанию — важнейший фактор, определяющий сроки использования ресурсов поймы воробьиными птицами. Возможность использования поймы в послегнездовой период, по-видимому, играет важную роль в поддержании регионального обилия и разнообразия видов, гнездящихся за её пределами, — в первую очередь, во вторичных биотопах.

Автор благодарит О.В. Бурского за руководство работой и предоставленные материалы гнездового учета, биологический факультет МГУ за финансирование экспедиций.

Географическая изменчивость черепа и проблемы систематики группы видов *Meriones meridianus* (MAMMALIA: RODENTIA)

Нанова Ольга Геннадьевна

*(Научно-исследовательский Зоологический музей МГУ им. Ломоносова М.В.
Россия, Москва, nanova@mail.ru)*

В надвидовом комплексе *Meriones meridianus* выделяют от 7 до 24 форм разного ранга. С помощью методов краниометрии нами исследована географическая изменчивость черепа полуденной песчанки и проведено сопоставление морфологической изменчивости с имеющимися в литературе данными по молекулярно-генетической изменчивости в этом надвидовом комплексе. Исследовали 635 экземпляров полуденных песчанок с территории бывшего СССР и Монголии (в том числе типовые экземпляры) и 30 экземпляров песчанок Даля *M. dahli* из Армении. Для выявления морфологических форм использовали процедуру кластеризации на основе метода максимального правдоподобия реализованную в программе Mclust. Краниологическая изменчивость в надвидовом комплексе полуденной песчанки хорошо согласуется с литературными данными изменчивости митохондриальной ДНК: трем

митохондриальным линиям на исследованной территории соответствуют три четко различающиеся по комплексу промеров черепа морфологические формы - *M. meridianus*, *M. penicilliger*, *M. psammophilus*. Большую часть Монголии населяет форма *M. psammophilus*, внутри которой не обнаружено направленной географической изменчивости. *M. meridianus* проникает только на запад Монгольской Джунгарии (в частности, граница между формами *M. psammophilus* и *M. meridianus* в Монголии проходит по хребту Тахин-Шара-Нуру). Внутри формы *M. meridianus* существует крадиометрическая долготная изменчивость. *M. dahli* по комплексу промеров черепа является хорошо очерченной формой, близкой к *M. meridianus*, однако, для обоснования видового статуса *M. dahli* присвоенного на основании гибридологических данных, необходимы молекулярно-генетические данные. Нами сделаны следующие таксономические обобщения. *M.m. massagetes*, *M.m. karelini* синонимичны *M. meridianus*, *M.m. nogaiorum* и *M.m. buehneri* являются валидными подвидами *M. meridianus*; *M.m. shirkovi* синонимичен *M. penicilliger*; *M.m. cryptorhinus*, *M.m. urianchaicus* принадлежат *M. psammophilus*.

Грант РФФИ 09-04-00283-а.

Поведенческая дифференциация сеголеток черноморской кумжи (*Salmo trutta labrax* L.) и её связь с жизненными стратегиями

Пономарева Валентина Юрьевна

(Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Россия, Москва, ponomareva_ipee@mail.ru)

Исследования реореакции сеголеток черноморской кумжи рыб проведены на Племенном форелеводческом заводе "Адлер" с использованием стандартных методик. В условиях заводского разведения сеголетки разделяются на две пространственные группировки – придонную и пелагическую, что связано с недостатком территории и агрессивным поведением придонных рыб. К возрасту 5-6 месяцев у рыб из разных группировок возникают различия в реореакции. Для особей из придонной группировки по сравнению с рыбами из пелагической группировки характерны: более высокие критические скорости течения; пониженная двигательная активность в реоградиенте; высокая доля особей со статическим типом реореакции.

Известно, что при смолтификации лососевых с длительным периодом обитания молоди в реках причиной дифференциации на мигрантов (анадромная жизненная стратегия) и резидентов (резидентная жизненная стратегия) является недостаток таких ресурсов, как пища и свободная (не занятая другими особями) территория. Длительное отсутствие пищи (10 суток) – мощный стимул для отказа от территориального поведения и изменения места обитания. То есть голодание формирует у экспериментальных рыб миграционное состояние. В этом состоянии особи из пелагической группировки, находившиеся в условиях недостатка такого ресурса, как места обитания (территория), в большей степени проявляют поведение, характерное для будущих мигрантов (движение вниз по течению); а особи из придонной группировки, обеспеченные необходимыми ресурсами (пищей и территорией), в большей степени, чем пелагические рыбы, проявляют поведение, характерное для будущих резидентов (движение против течения). Таким образом, длительное обитание в условиях разной обеспеченности ресурсами (в частности, территории) задолго (за 7-8 мес.) до начала смолтификации изменяет вероятность проявления той или иной жизненной стратегии.

Работа выполнена при участии академика Д.С. Павлова и В.В. Костина и при финансовой поддержке: РФФИ 08-04-00927-а, Программы Президиума РАН «Биоразнообразие: инвентаризация, функции, сохранение», Федерального агентства по науке и инновациям (госконтракты 02.740.11.0280, 14.740.11.0165, 16.740.11.0174) и Программы Президента РФ "Ведущие научные школы" НШ-3231.2010.4.

Структура популяции, социальное поведение и вокализация садовой камышевки (*Acrocephalus dumetorum* Blyth) в период размножения в Приунженской низменности.

Самоцкая Вероника Владимировна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, unicornus@yandex.ru)

Обширный ареал садовой камышевки *Acrocephalus dumetorum* (Passeriformes, Sylviidae) простирается от Прибайкалья до Балтийского моря почти на 5000 км. Он сильно расширился за последние десятилетия и продолжает расширяться в северо-западном и южном направлениях. Отсутствие подвидовой дифференциации на столь обширном ареале также свидетельствует о быстром расселении. Повсюду садовая камышевка достигает высокой численности и широко распространена. Изучение биологии и популяционной структуры садовой камышевки представляет особый интерес в связи с пониманием механизмов биологического успеха таких видов, поскольку причины такой экспансии могут быть связаны не только с коренной трансформацией ландшафтов человеком, но и с некоторыми эколого-поведенческими и морфо-биологическими особенностями вида. Структуру популяции, социальное поведение и вокализацию садовой камышевки изучали в период гнездования в Мантуровском районе Костромской области, где она занимает два различных типа местообитаний: низкую пойму р. Унжи, ежегодно подвергающуюся паводку, и существенно более сухие растительные ассоциации на плакоре с более ранним развитием жесткостебельной растительности. Второй тип местообитаний – одичавшие сады и зарастающие кустарником сенокосные луга, представляют собой в настоящее время основной ландшафт региона.

Успешность размножения во всех изученных нами поселениях оказалась стабильной и высокой в различных местообитаниях и в разные сезоны наблюдений (2007 и 2009 гг.). Она не зависела ни от морфометрических параметров родителей, ни от типа местообитания, ни от сезонной динамики гнездования. Мы также определили величину акустического репертуара самцов. Она варьирует от 35-ти до 95-ти типов песен. Мы выяснили, что степень их перекрытия, вычисленная по коэффициенту Жаккара, была невелика, колебалась от 0,008 до 0,99 и в среднем составляла 0.036 ± 0.02 и не зависела от расстояния между самцами. Доля типов песни, отмеченных в 2007 г., в репертуаре самцов, изученных в 2009 г., была так же невелика и варьировала от 3,39 до 28,57%, в среднем всего $11,01 \pm 8,19\%$. Эксперименты показали, что поющие самцы для общения между собой не склонны не имитировать незнакомые им типы песни из репертуаров соседей. Они предпочитают подбирать похожие типы из своего репертуара.

Исследование внутриротовой вкусовой рецепции плотвы *Rutilus rutilus*

Тинькова Татьяна Викторовна

(Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Россия, Москва, tan_t@mail.ru)

Вкусовой рецепции принадлежит особая роль в сенсорном обеспечении пищевого поведения рыб. В последние годы стали проводиться целенаправленные исследования вкусовых предпочтений рыб. С помощью разработанных поведенческих тестов было показано, что химические вещества вызывают различные типы вкусовых ответов у рыб. Среди исследованных веществ сведения о вкусовых свойствах карбоксильных кислот и сахаров остаются крайне отрывочными. Данные, касающиеся сравнительной оценки вкусовой привлекательности для рыб натуральных вкусовых раздражителей (экстракты кормовых организмов, природные детергенты) практически отсутствуют. В настоящей работе исследованы особенности внутриротовой вкусовой рецепции у плотвы *Rutilus rutilus*. В поведенческих экспериментах на протестированы органические кислоты, сахара, танин и водные экстракты некоторых гидробионтов. Опыты проведены на молоди плотвы. Выяснено, что 14 органических кислот, из 17 протестированных, имеют детергентный вкус для плотвы и 3 – индифферентный. Все сахара обладают стимулирующим эффектом. Танин выступает в качестве индифферентного стимула. Водный экстракт дафний и личинок

хинономид, которых плотва охотно использует в пищу, вызывают максимальные по силе положительные вкусовые ответы, также как и экстракт яски и нитчатки. Сильные deterrentные реакции вызывает экстракт кожи серой жабы, в то время как экстракт вертячек, предположительно обладающий неприятными хемосенсорными качествами для рыб, относится к индифферентным стимулам. Таким образом, установлено, что большинство органических кислот являются deterrentными вкусовыми раздражителями, а сахара имеют привлекательные вкусовые свойства для плотвы, в питании которой растительность играет заметную роль. Предполагается, что индифферентное отношение плотвы к вкусу танина носит адаптивный характер. Полученные результаты подтверждают положение о том, что экстракты кормовых объектов обладают стимулирующими вкусовыми свойствами, а натуральные deterrentы могут обладать межвидовой эффективностью.

Работа осуществлена при поддержке РФФИ (проект 10-04-00349), Программы «Университеты России» (проект № 2.1.1.3267), Программы «Ведущие научные школы» и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 годы» (Госконтракт № 02.740.11.0280).

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

О видовом составе рыб, подверженных воздействию *P. cuticola* на территории Курской области

Баранова Нина Васильевна

*(Курский государственный университет, Естественно-географический факультет,
Россия, Курск, ninisimus@mail.ru)*

Постодипломоз – болезнь пресноводных рыб, вызываемая метацеркариями дигенетического сосальщика – трематоды *Posthodiplostomum cuticola*. В эпизоотологии данного заболевания, большое значение имеет фактор изученности видового разнообразия промежуточных и окончательных хозяев. Так как, по данному вопросу все еще нет полной, обобщенной информации, то необходимо вести всестороннее изучение данной проблемы. Важным вопросом является изучение вторых промежуточных хозяев – рыбы, наиболее восприимчивой к заражению метацеркариями *P. cuticola* в условиях Курской области.

Для изучения зараженности рыбы личиночными стадиями (метацеркариями) постодипломозом было обследовано 7 видов рыб, относящихся к отряду *Cypriniformes*: плотва (*Rutilus rutilus* (L.)), карп (*Cyprinus carpio* (L.)), белый толстолобик (*Hypophthalmichthys molitrix* (L.)), карась серебряный (*Carassius auratus* (L.)), лещ (*Abramus brama* (L.)), красноперка (*Scardinius erythrophthalmus* (L.)), густера (*Blicca bjoerkna*) (L.). Заболевание рыбы постодипломозом определяли по характерным морфологическим признакам – наличие черных пятен и бугорков в коже, поверхностном слое мускулатуры тела, жабрах. Зараженность рыбы *P. cuticola* изучали методом неполного, полного гельминтологического вскрытия, компрессорным методом. Метацеркарии *P. cuticola* дифференцировали, освобождая рыбу от чешуи, затем скальпелем и ножницами вырезая бугорки черного цвета, высвобождали из них капсулы и микроскопировали.

Исследования показали, что высокие показатели встречаемости метацеркарий *P. cuticola* зарегистрированы у белого толстолобика (24,4%), что в 1,1 и 1,2 раза выше чем у леща (22,2%) и красноперки (20,3%) соответственно. Минимальные показатели зараженности отмечены у плотвы (9,8%), что в 1,9 раза ниже, чем у карпа (18,3%). У густеры признаков болезни отмечено не было. Полученные результаты по видовой зараженности рыб *P. cuticola* в прудах рыборазведения, возможно связаны с тем, что белый толстолобик является искусственно созданным видом рыбы, в связи с чем и является наиболее восприимчивым к *P. cuticola* относительно других видов, а высокие показатели инвазивности леща и красноперки метацеркариями *P. cuticola* связаны с придомовым обитанием этих видов рыб, что обусловлено более легким проникновением паразита в организм рыбы.

Таким образом, с учетом данных показателей, мы считаем, что перечисленные шесть видов карповых рыб играют ведущую роль в накоплении инвазионных элементов и

циркуляции *P. cuticola* на территории Курской области. Роль других видов карповых рыб в функционировании очагов постодипломоза нами пока не установлена.

Работа проведена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 гг.» государственный контракт № 14.740.11.0412.

Возрастные изменения структуры коркового вещества надпочечников марала и пятнистого оленя

Герасименко Евгений Викторович

(Алтайский государственный аграрный университет, Россия, Барнаул, zhorik-86@mail.ru)

Изучение структуры надпочечников млекопитающих, вырабатывающих гормоны, которые обеспечивают адаптацию организма к условиям окружающей среды, в сравнительном аспекте позволяет глубже понять биологические процессы, связанные с обменом веществ и важных для экологической морфологии. Возрастные изменения, происходящие в надпочечниках, у млекопитающих видоспецифичны. Материалом послужили надпочечники 8-месячных и взрослых самцов двух видов оленей, взятые в мараловодческих хозяйствах республики Алтай. Фрагменты средних частей желез фиксировали в формалине, парафиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

Размеры коркового вещества надпочечника у марала к взрослому состоянию возрастают на 12,5%, у пятнистого оленя - на 30 %. Клубочковая зона представлена изогнутыми тяжами небольших клеток, отделенных соединительнотканными прослойками. У марала тяжи изогнуты в виде петель, у пятнистого оленя – собраны в виде гроздьев. Клубочковая зона увеличивается у марала на 23,6%, у пятнистого оленя - на 45%. Относительная толщина этой зоны достоверно выше у взрослых пятнистых оленей по сравнению с молодыми.

Пучковая зона надпочечника у марала и пятнистого оленя четко отделена от клубочковой. Она представлена радиальными тяжами крупных полигональных клеток, между которыми залегают синусоидные капилляры. Пучковая зона у марала возрастает к 7-летнему возрасту на 13%, у пятнистого оленя – 23%, при этом относительная толщина пучковой зоны пятнистого оленя снижается из-за опережающего роста других слоев коркового вещества.

Сетчатая зона коры не отграничена резко от пучковой. Здесь клетки анастомозируют друг с другом, образуя сеть. Сетчатая зона у марала уже сформирована в 8-месячном возрасте, ее размеры при дальнейшем росте органа не изменяются. У пятнистого оленя толщина сетчатого слоя увеличивается в два раза, а значение относительной толщины возрастает с 11,8% до 16%.

По результатам проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

У марала и пятнистого оленя с возрастом увеличиваются размеры клубочковой и пучковой зон надпочечников, но у пятнистого оленя их рост происходит интенсивнее.

Структура коркового вещества и процентное соотношение слоев у марала формируется к 8-месячному возрасту, а у пятнистого оленя – позднее. Сетчатая зона, где вырабатываются половые гормоны, у марала в 8-месячном возрасте по структуре соответствует таковой взрослых животных, а у пятнистого оленя еще слабо развита.

К распространению ласточек рода *Riparia* Центральной Сибири

Евтихова Анастасия Николаевна

(Сибирский федеральный университет, Россия, Красноярск, evtushka87@mail.ru)

На территории Центральной Сибири обитают два симпатрических близкородственных вида ласточек рода *Riparia* – береговая *Riparia riparia* L., 1758 и бледная *Riparia diluta* Sharpe et Wyatt, 1893. Данные по их распространению и степени перекрытия ареалов весьма отрывочны и противоречивы.

Для изучения распространения ласточек Центральной Сибири птиц отлавливали паутинными сетями на колониях, проводили прижизненное обследование (912 экз.) и

кольцевание (4520 экз.). Автором также обработан коллекционный материал Зоологического музея СФУ (88 экз.).

Бледная ласточка распространена на север примерно до 60-й параллели, однако даже у границы своего ареала она многочисленна и образует обширные колонии численностью 400-500 и более пар. Так, большие колонии *Riparia diluta* найдены по р. Ангара. Здесь этот вид численно преобладает над *Riparia riparia*, найдено всего две колонии береговой ласточки и одна смешанная. Далее к югу, на территории островных лесостепей Центральной Сибири, большинство обследованных колоний (n=21) также населяет бледная ласточка. Отмечено 4 поселения береговой ласточки. Колонии *Riparia diluta* здесь более многочисленны, в среднем насчитывают 300-400 пар, некоторые колонии - до 1000 и более. В то же время колонии *Riparia riparia* на указанной территории состояли из 20-100 норок. Здесь найдено четыре смешанных колонии, все – в непосредственной близости от водоёма. В Минусинской котловине бледная и береговая ласточка также встречаются совместно. Из 10 найденных колоний 8 населяла *Riparia diluta*. В Туве в отловах также преобладала *Riparia diluta*, единственная колония *Riparia riparia* найдена на оз. Тере-Холь (50°63'N, 97°42'E), расположенном среди лесного массива.

Таким образом, в результате проведенных исследований выяснено, что зона симпатрии указанных видов охватывает практически всю Центральную Сибирь. При этом *Riparia diluta* здесь более обильна на гнездовании, чем считалось ранее и, вероятно, превосходит по численности *Riparia riparia* на юге региона. Вполне возможно, что *Riparia diluta* в настоящее время расширяет свой ареал, становясь более многочисленной не только в своих исконных аридных местообитаниях, но и на более северных территориях.

Связь гельминтоносительства с трофологией у *Rana ridibunda* (Pallas, 1771)

Заринова Фаля Фуатовна

(Сибайский институт (филиал) ГОУ ВПО «Башкирский государственный университет»), Естественно-математический факультет, Россия, Сибай,

faliyabio@mail.ru)

Антропогенная нагрузка оказывает прямое влияние на физико-химический состав водоемов, почвенный покров, растительный и животный мир наземных, околородных и водных биотопов. Следствием этого является изменение структуры гельминтофауны и трофических связей позвоночных животных. Наша работа посвящена гельминтологии и трофологии озерной лягушки *Rana ridibunda* (Pallas, 1771) г. Салават и его окрестностей Республики Башкортостан. Отлов земноводных проводили в 2010 г. в условиях различной урбанизации: 1) «жилые многоэтажные застройки» – пруд в парке 50 лет Октября г. Салават (34 экз.); 2) «жилые малоэтажные застройки» – городской пляж на р. Белая (30 экз.); 3) «контроль» – дер. Сабашево Мелеузовского р-на (в 12 км от г. Салават) – 18 экз. Всего в г. Салават и его окрестностях у *R. ridibunda* обнаружено 11 видов гельминтов, относящихся к 2 систематическим группам: Trematoda (10 видов, в т.ч. 3 вида на стадии метацеркарий) и Nematoda (1 вид). Наибольшее разнообразие гельминтов обнаружено у земноводных из городского пруда (10 видов); второе место занимают амфибии из р. Белая (городской пляж) – 9 видов; 8 видов паразитов зарегистрировано у озерной лягушки из контрольной зоны. Общими для двух антропогенных участков являются 8 видов паразитов (индекс Жаккара, $I = 72,7\%$), для биотопов 2 – 3: $I = 60,0\%$, а для биотопов 1 – 3: $I = 54,6\%$. Популяция амфибий из биотопа 1 включает богатый видовой состав и составляет следующие группы паразитов: субдоминантные (2), обычные (2), редкие (3), единичные (3). Популяция лягушек биотопа 2 отличается достаточно богатым видовым составом гельминтов при высоком уровне зараженности легочной трематодой *Pneumonoeces variegatus* (93,33%), а структура сообществ паразитов включает следующие группы: доминантные (1), обычные (2), редкие (3), единичные (3). Для озерных лягушек из биотопа 3 также характерна неоднородная структура сообществ паразитических червей: субдоминантные (1), обычные (4), редкие (1), единичные (2). В циркуляции гельминтов амфибий участие принимают водные объекты питания. На их долю у озерной лягушки из городского пруда приходится 6 видов (33,3%). Три вида (21,4%) зарегистрировано в желудках амфибий из пляжа р. Белая; видовое

разнообразие объектов питания земноводных контрольной группы представлено 5-ю видами (35,7%). Таким образом, трансформация среды приводит к некоторому снижению фаунистического разнообразия беспозвоночных животных, участвующих в циркуляции гельминтов. У озерных лягушек урбанизированных территорий 4 вида трематод циркулирует по пищевым цепям: в зоне с высоким прессом (городской пляж на р. Белая) 2 вида гельминтов заражают земноводных через пищу; в пруду городского парка – 4 вида паразитов. В зоне со средней степенью антропопрессии (р. Белая у дер. Сабашево) по трофическим связям циркулирует 5 видов трематод. Заражение метацеркариями стригеид наблюдается в обеих антропогенных популяциях. Экстенсивность их инвазии варьирует от 14,71 до 58,82% (пруд в парке) и от 3,33 до 23,33% (р. Белая, пляж). В контрольном биотопе эти показатели держатся на уровне 33,33%. Таким образом, структура паразитофауны урбоэкосистем неоднородна и упрощена несмотря на видовое разнообразие гельминтов, что объясняется избытком промежуточных хозяев в водоемах. В условиях повышенного антропогенного воздействия на долю единичных и редких видов приходится от 80 до 89%. В структуре паразитофауны эталонной группы стабильно преобладают субдоминантные (12,5%) и обычные виды гельминтов (50%). В зоне с высокой степенью антропопрессии доля водных пищевых объектов, принимающих участие в циркуляции гельминтов, варьирует от 21,4 и 33,3%, а в контрольной зоне их доля составляет 35,7%.

Этологические аспекты распределения уток на зимовке в черте г. Красноярска **Ковалевский Евгений Васильевич**

(Сибирский федеральный университет, Россия, Красноярск, 2glaza@list.ru)

Проблема изучения зимовок водоплавающих птиц на водоемах Центральной Сибири весьма актуальна. В настоящей работе рассматриваются некоторые этологические особенности распределения утиных в зимний период в пределах крупной городской агломерации – г. Красноярска.

Материал для настоящего сообщения собран путем натуральных наблюдений в декабре-марте 2006-2011 гг. на участках массовых скоплений уток (всего 185 учетов и около 1 тысячи повторностей наблюдений).

Ежегодно в черте г. Красноярска зимует 2,0-2,5 тысячи уток, преобладающим видом является кряква *Anas platyrhynchos* L., 1758 (в среднем 78,5±2,5 %, n= 6 сезонов), встречается также гоголь *Bucephala clangula* L., 1758 (15,8±6,2%), и реже большой крохаль *Mergus merganser* L., 1758 (5,1±3,7%). В зависимости от условий зимовки (воздействие естественных экологических и антропогенных факторов) отмечается частичное перераспределение птиц. Наибольшей толерантностью к обитанию в измененной человеком среде обладают зимующие группировки крякв. Этот вид является наиболее пластичным в выборе местообитаний, находящихся под различной антропогенной нагрузкой. Так, дистанция вспугивания у крякв в группировках, обитающих в нижнем течении Качи (район Центрального рынка, устья Качи), у «Центра Красноярье» и в Абаканской протоке, получающие постоянную подкормку от человека, составляет 1-10 метров. Птицы, пребывающие на Качинской протоке, на Енисее у о-вов Татышева, Сосновый и др. взлетают при приближении человека на 50-250 и более метров. Стабильная численность крякв (700-1000 особей) позволяет предположительно говорить о существовании «урбанизированной» микропопуляции, наиболее терпимой к человеку. Другие, более «дикие», группировки кряквы обитают в местах относительно редкого контакта с человеком, где отмечается гибель птиц от браконьерства. Нырковые утки, в частности гоголь и большой крохаль, предпочитают держаться на участках, где присутствие человека минимально, дистанция вспугивания этих птиц колеблется в пределах 70-250 м. Мы неоднократно отмечали вспугивание этих птиц на дистанции 400 метров.

Таким образом, этологические особенности водоплавающих птиц с различной «терпимостью» к антропогенным воздействиям позволяют им достаточно успешно зимовать в местах, расположенных в пределах их гнездового ареала.

**Морфофункциональная характеристика семенников мышевидных грызунов в зоне влияния предприятия черной металлургии
Мешкова Олеся Александровна**

(ГОУ ВПО Оренбургская государственная медицинская академия Росздрава, ГОУ ВПО Оренбургский государственный педагогический университет, Россия, Оренбург, Meshkova.20@yandex.ru)

Изучение последствий техногенного загрязнения природной среды тяжелыми металлами является одной из актуальных проблем экологии Урала, поскольку здесь сосредоточено немало крупных металлургических предприятий. Опасность загрязнения в частности состоит в том, что попадая в организм, они аккумулируются в тканях с последующим токсическим действием на организм. С использованием гистологических, гистохимических и морфометрических методов исследовали семенники половозрелых особей мышевидных грызунов (лесной мыши – *Apodemus sylvaticus* Linnaeus, 1758; полевой мыши – *Apodemus agrarius* Pallas, 1778; полевки обыкновенной – *Microtus arvalis* Pallas, 1779; полевки рыжей – *Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780) из биоценозов Восточного Оренбуржья, испытывающих влияние выбросов предприятия черной металлургии ОХМК Уральская сталь. Контролем служили животные тех же видов, населяющие экологически благополучные экосистемы. Сбор материала проводили в летние сезоны 2008-2010 годов. В результате исследования выявлено, что в зоне влияния металлургического предприятия на фоне сниженной численности животных исследованных видов отмечается тенденция к снижению массы половозрелых животных и уменьшению массы гонад. В семенниках наблюдается существенное изменение соотношений между объемом извитых семенных канальцев и интерстициальной соединительной ткани: в зоне влияния металлургического предприятия доля интерстициальной соединительной ткани в семенниках возрастает в полтора-два раза. У всех исследованных видов животных техногенной территории уменьшается диаметр извитых семенных канальцев: так, например, у лесной мыши в зоне воздействия предприятия в июне 2010 года диаметр извитых семенных канальцев составлял $146,43 \pm 7,14$ мкм, а в экологически благополучных биоценозах – $160,23 \pm 9,42$ мкм. Наряду с отмеченными изменениями в семенниках всех изученных видов мелких млекопитающих выявлено возрастание более чем в два раза доли извитых семенных канальцев с выраженной деструкцией сперматогенного эпителия. Адаптивные и реактивные изменения в популяции клеток Лейдига семенников указывают на меньшую выраженность деструктивных изменений в них. Сравнительный анализ гистологических препаратов семенников исследованных видов мышевидных грызунов показал, что органы мужской репродуктивной системы в зоне влияния предприятия ОХМК функционируют в напряженном режиме. Как следствие, это может привести к снижению продуктивности размножения исследуемых видов и к уменьшению их численности.

Генетическое своеобразие соболя Центральной Сибири

Пищулина Софико Левановна

(Институт проблем экологии и эволюции им.А.Н.Северцова РАН, Россия, Москва, molecoldna@gmail.com)

Соболь до сих пор остается практически не исследованным генетически с помощью современных методов молекулярной диагностики. Работа проведена с целью оценки генетического своеобразия популяций соболя в центральной части ареала. Известно, что разнообразие и частоты встречаемости аллелей мультиаллельных микросателлитных локусов ядерной ДНК, отражают генетический состав популяций в настоящее время. Нами получены данные (фрагментный анализ) о частотах аллелей 11 микросателлитных локусов для 4 выборок соболей, добытых в Центральной Сибири. В выборке из 28 соболей из Тунгусско-Чунского района Красноярского края средний для 11 микросателлитных локусов уровень ожидаемой гетерозиготности (H_e) составляет 0.659, наблюдаемой гетерозиготности (H_o) - 0.728, среднее число аллелей на locus – 8.0 (программа Arlequin v.3.11). В выборке из

32 соболей Курагинского района Красноярского края соответственно $N_e = 0.707$, $N_o=0.785$, среднее число аллелей на локус – 9.182, в выборке из 32 соболей Катангского района Иркутской области $N_e = 0.704$, $N_o=0.760$, среднее число аллелей на локус – 8.5, в выборке из 27 соболей Братского района Иркутской области = 0.674, $N_o=0.770$, среднее число аллелей на локус – 8.2. Сравнение с имеющимися данными литературы для американской куницы и американской норки показало, что значения N_e у соболя совпадают или близки к значениям этих видов. Анализ на основе частот аллелей микросателлитных локусов (программа STRUCTURE 2.0) показал отсутствие популяционной структуры в пределах совокупной выборки из Центральной Сибири. Таким образом, проведенный анализ показал, что популяции соболей, обитающих в исследованных районах Центральной Сибири, в настоящее время в целом генетически достаточно однородны.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биологическое разнообразие», ОБН РАН «Биологические ресурсы России: Оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга» и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (проект №2009-1.1-221-007).

О гнездовании большого подорлика в Западном Саяне

Рудовский Владислав Сергеевич

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Географический факультет, Москва, Россия, ornitovlad@yandex.ru)

Большой подорлик (*Aquila clanga* Pallas, 1811) – редкий вид, распространённый в пределах ареала очень неравномерно. Он занесен в Красную книгу РФ, в Приложение II Конвенции СИТЕС и в перечень Российско-индийской конвенции об охране перелётных птиц.

В начале XX века большой подорлик на юге Красноярского края был распространен спорадично, но местами считался обычным, однако уже в 1940–1950-х годах стал редок. Сейчас вид всюду в крае очень редок. Известны лишь единичные случаи гнездования на юге Красноярского края и в Туве, поэтому находка нового жилого гнезда большого подорлика летом 2010 г. в Усинской межгорной котловине (Западный Саян) может представлять интерес.

Изучение населения хищных птиц проводилось нами в Усинской котловине и её окрестностях в 2008-2010 гг. Также для работы были использованы результаты исследований группы учёных под руководством И.В. Карякина с 1999 по 2004 гг. и публикации других орнитологов.

Возможно, первая за последние несколько десятков лет находка жилого гнезда большого подорлика в Западном Саяне произошла 23 июня 2010 г. в Усинской межгорной котловине. Гнездо найдено в заболоченном березняке в пойме р. Ус, примерно в 2,3 км от села Верхнеусинское. На момент обнаружения гнезда большого подорлика в нём находился птенец возрастом всего несколько суток. Впоследствии птенец был окольцован. К сожалению, мы покинули котловину ещё до вылета птенца из гнезда. Интересно, что в окраске одной особи из пары гнездящихся птиц были многочисленные светлые пестрины, указывающие на то, что её возраст меньше 4 лет. Вторая птица из пары была типичной «взрослой» окраски.

Учитывая возраст одного из родителей и отсутствие встреч подорликов на данной территории ранее, можно предположить, что эти птицы начали гнездиться здесь после 2008 г. Будем надеяться, что новый гнездовой участок большого подорлика, обнаруженный в Западном Саяне, просуществует не один год.

Пространственное распределение гнёзд мелких соколов и чернолобого сорокопута в глинистой полупустыне

Сухолозов Евгений Александрович

(Московский педагогический государственный университет им. М.В.Ломоносова, Россия, Москва, e.sukholozov@mail.ru)

Для глинистой полупустыни Заволжья известны работы по видовому разнообразию птиц и его динамике. Однако характер распределения гнездящихся видов в них не изучался. В ходе исследований древесно-кустарниковых насаждений полупустынного Заволжья в 2009 – 2010 годах особое внимание было уделено характеру распределения кобчика (*Falco vespertinus* L.), обыкновенной пустельги (*Falco tinnunculus* L.) и чернолобого сорокопута (*Lanius minor* Gm.). Эти виды являются многочисленными обычными для региона. Все гнёзда картировали с помощью GPS навигатора. Были исследованы сады урочищ и посёлков, а также придорожные лесополосы. Характер распределения определялся методом «ближайшего соседа». Минимальные расстояния между гнёздами птиц в различных насаждениях сравнивались F-критерием Фишера. Всего было проанализировано расположение 250 гнёзд чернолобого сорокопута и 78 гнёзд соколов.

Каждый из трёх видов в лесополосах может гнездиться как одиночными парами, так и визуально определяемыми скоплениями. Характер распределения гнёзд для сорокопутов и кобчиков случайный, для пустельги - равномерный. В целом для соколов – случайный.

В садах сорокопуты гнездятся скоплениями. Изначально они размещают свои гнёзда случайным образом. В отличие от лесополос здесь отмечалось вселение новых гнездящихся пар в уже существующее скопление. В этом случае распределение этого вида становится групповым, формируются полукolonии контактного типа. Характер распределения соколов при гнездовании в садах не изменяется. Расстояние между гнёздами у всех рассматриваемых видов в садах достоверно меньше ($p=0,05$), чем в лесополосах.

Изменение расстояний между гнёздами связано с тем, что сады по сравнению с лесополосами являются фрагментами древесно-кустарниковой растительности. Мелкие соколы при изменении условий гнездования сохраняют характер распределения гнёзд, но селятся ближе друг к другу. У чернолобых сорокопутов изменяются не только расстояния между гнёздами, но и характер пространственного распределения.

Экологическая дифференциация форм *Motacilla citreola* Pall. в Алтае-Саянском экорегионе

Темерова Виктория Леонидовна

(Сибирский Федеральный университет, Красноярск, Россия, toritem@mail.ru)

Алтае-Саянский экорегион в силу своей мозаичности относится к особо ценным территориям в деле сохранения генофонда исчезающих и редких птиц фауны РФ и планеты в целом, он включен в «Global 200» - список, определенный Всемирным фондом дикой природы (WWF) девственных или мало измененных территорий мира, в которых сосредоточено более 90% биоразнообразия планеты.

До недавнего времени представления об экологии форм *Motacilla citreola* Pall. на исследуемой территории основывались преимущественно на работах начала XX века. Этот палеарктический вид – характерный представитель прибрежных биотопов степи и лесостепи региона. В рассматриваемом регионе встречается 3 близкородственные формы: восточная – *M.c.citreola* Pallas, 1776, западная – *M.c.werae* Buturlin, 1907, монгольская – *M.c.quassatrix* Portenko, 1960.

Основной материал собран в результате эколого-фаунистических исследований, проводящихся сотрудниками кафедры прикладной экологии и ресурсоведения СФУ в течение последних десятилетий. Для детального изучения морфологических признаков птиц коллектировали. В настоящее время в фондах зоологического музея СФУ собрано 176 тушек желтоголовой трясогузки из 26 пунктов, а также проанализированы полевые исследования автора 2008-2010 гг.

Желтоголовая трясогузка заселяет заболоченные луга, берега озер, болот и искусственных водоемов, сырые пойменные луга. Из всех, обитающих на территории Алтае-

Саянского экорегиона представителей семейства Motacillidae, желтоголовая трясогузка как стенобионтный вид тяготеет к микростациям с повышенной влажностью.

Область гнездования *M.c.werae* в регионе представлена как сплошными участками на водоемах Хакасии и юга Красноярского края, так и изолированными периферийными. Данный подвид явно тяготеет к котловинным участкам. Типичная гнездовая стация его - сырые открытые лугово-тростниковые полосы вдоль берегов озер с фрагментами болота, пойменные участки рек. Наличие макрофитов - определяющий фактор распространения этой формы желтоголовой трясогузки на равнине.

Номинативная форма *M.c.citreola* на исследуемой территории имеет дизъюнктивный ареал. По природно-климатическим условиям гольцовый пояс Алтае-Саянской горной страны в местах ее обитания сходен с северными широтами. По имеющимся коллекционным экземплярам, добытым А.П. Савченко на гнездовании в Саянах (оз. Ойское, ст. Буйба и р. Нижняя Буйба), добытые в горах экземпляры близки к номинативному подвиду, хотя мы не исключаем дивергенции в развитии признаков, характеризующих население этой горной страны.

Анализ имеющихся экземпляров желтоголовой трясогузки и сведений по их биотопической приуроченности показал, что на территории региона не обнаружено зон интерградации между западной и восточной формами.

Автор выражает признательность профессору, д.б.н. Савченко А.П. за помощь в подготовке тезисов.

Морфологическая характеристика репродукции прыткой (*Lacerta agilis*) и живородящей (*Lacerta vivipara*) ящериц в зоне влияния металлургического комбината ОАО «Урал Сталь»

Филатова Любовь Николаевна

(ГОУ ВПО Оренбургская государственная медицинская академия, ГОУ ВПО Оренбургский государственный педагогический университет, Россия, Оренбург, liska_111@mail.ru)

Целью нашего исследования было изучение морфофункциональной характеристики органов репродуктивной системы рептилий, населяющих биоценозы, подверженные влиянию выбросов черной металлургии. С использованием гистологических, гистохимических и морфометрических методов исследовали семенники и яичники половозрелых особей прыткой *Lacerta agilis* и живородящей *Lacerta vivipara* ящериц, обитающих в зоне влияния Новотроицкого металлургического комбината ОАО «Урал Сталь». Контролем служили животные тех же видов, населяющие экологически благополучные экосистемы. Сбор исследованных животных (10 особей каждого вида и пола) проводился в летние месяцы 2008-2010 годов. В зоне влияния металлургического предприятия на фоне сниженной численности животных исследованных видов отмечается тенденция к снижению массы половозрелых особей; уменьшается масса мужских и женских гонад. Органы репродуктивной системы самцов работают в напряженном режиме. Происходит существенное нарушение морфофункциональных параметров семенников. Возрастает в 2 раза доля соединительной ткани в семенниках и снижается объем органа, приходящийся на извитые семенные каналы. При этом степень выраженности морфофункциональных нарушений заметно выше в сперматогенном эпителии по сравнению с популяцией интерстициальных эндокриноцитов (клеток Лейдига). В яичниках половозрелых самок всех исследованных видов из зоны воздействия металлургического предприятия деструктивные изменения менее выражены по сравнению с самцами. Наиболее характерным морфологическим отличием самок из зоны влияния металлургического предприятия является сниженное количество фолликулов в корковом веществе. Мы провели сравнительный анализ гистологических препаратов гонад исследованных рептилий. Он показал, что обитание в зоне влияния предприятия негативно сказывается на процессах репродуктивной активности животных. Процессы репродукции идут в напряжённом режиме на грани истощения адаптационных возможностей животных. В целом период репродуктивной активности у животных, обитающих в зоне влияния предприятия чёрной

металлургии, значительно короче, чем у животных неизменённых биоценозов. Это может привести к снижению продуктивности размножения организмов и к снижению численности этих животных, а в последующем – и к исчезновению популяции в целом.

Динамика социальной структуры популяции одичавших лошадей

Щербакова Нина Владимировна

*(Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова, Москва, Россия,
nika.wo@mail.ru)*

Социальная структура – важная характеристика популяции животных. Анализ динамики социальной структуры необходим для оценки устойчивости популяций, что важно при разработке стратегии управления популяциями одичавших животных.

Объект исследований – популяция одичавших лошадей о. Водный в Государственном природном заповеднике «Ростовский». Комплексный мониторинг популяции проводится с 2006 г. При изучении применялись методы визуального наблюдения и маршрутных исследований.

Была прослежена динамика численности популяции. Максимальная численность отмечена летом 2007 г. (419 особей), далее последовало два пика ее снижения в результате падежа животных: зимой с 2007 по 2008 гг. и с 2009 по 2010 гг. Летом 2010 г. насчитывалось 96 особей.

Социальная структура популяции до начала 2010 г. была представлена гаремными, холостяцкими и смешанными группами (гаремные группы с несколькими половозрелыми жеребцами, холостяцкие группы с несколькими кобылами, «молодежные группы»), а также одиночными животными. Гаремные группы составляли основу популяции (58,2 – 74,2% от численности популяции). Особенностью социальной структуры популяции 2006-2009 гг. была значительная доля смешанных групп (17,7 - 25,8% от численности популяции).

После катастрофического падежа животных зимой 2009-2010 гг. произошло кардинальное изменение в составе социальных групп. Образовались новые группы гаремного и холостяцкого типа. Гаремные группы, по-прежнему, составляли основу популяции (87,5% от численности популяции). Смешанные группы отсутствовали.

Изменения состава социальных групп в популяциях одичавших лошадей могут происходить в результате действия естественных поведенческих механизмов и/или экологических условий. После природной катастрофы зимой 2009-2010 гг. произошло полное восстановление естественной социальной структуры популяции одичавших лошадей (гаремные и холостяцкие группы). Образование смешанных типов групп в популяции, видимо, связано со смещением соотношения полов и увеличивающейся плотностью. Таким образом, изменения в социальной структуре популяции могут служить показателями внутривидовых стабилизационных процессов.

ПОДСЕКЦИЯ «МИКОЛОГИЯ И АЛЬГОЛОГИЯ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Холодовая акклимация зеленой одноклеточной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*

Аникина Арина Витальевна

(Санкт-Петербургский государственный университет, Лаборатория адаптаций микроорганизмов кафедры микробиологии, Россия, Санкт-Петербург, aav87@mail.ru)

Холодовой стресс отрицательно сказывается на росте и развитии растений, однако, большинство растений способны выдерживать воздействие пониженных температур благодаря явлению так называемой холодовой акклимации.

Зеленая одноклеточная водоросль *Chlamydomonas reinhardtii* широко используется как модельный объект для анализа и исследования физиологических, биохимических и молекулярных аспектов жизнедеятельности фотосинтезирующих эукариотных организмов. Геном *C. reinhardtii* полностью секвенирован, широко изучена биология объекта. Тем не менее, многие аспекты действия пониженных температур на *Chlamydomonas* остаются не изученными.

Анализ сиквенса генома *C. reinhardtii* показал наличие последовательностей, кодирующих ферменты синтеза трегалозы и глицерина - протекторных молекул широко представленных в растительном и животном мире.

Нами был проведен ферментативный анализ накопления трегалозы в вегетативных клетках в результате воздействия пониженных температур, который показал увеличение внутриклеточной концентрации данного вещества в ходе акклимации. Причем увеличение уровня внутриклеточной трегалозы регистрируется уже после 4 часов воздействия пониженных температур, и к 72 часам возрастает более чем в 10 раз.

Ферментативный анализ накопления глицерина в вегетативных клетках, так же выявил увеличение внутриклеточной концентрации этого протектора в ходе холодовой акклимации, к 72 часам происходит четырехкратное увеличение нормального уровня глицерина внутри клетки.

Кроме того, анализ генома *C. reinhardtii* позволил выявить наличие последовательности высоко гомологичной csp-генам бактерий. С использованием методов real-time PCR было показано четырехкратное увеличение уровня экспрессии csp-гомолога в условиях холодового шока уже после 4 часов действия стрессора. По-видимому, продукт указанного гена может выступать в качестве РНК-шаперона, как и гомологичные гены бактерий.

Таким образом, у *C. reinhardtii* в процессах холодовой акклимации выявлено накопление как минимум двух молекул-протекторов, трегалозы и глицерина, причем накопление трегалозы для *C. reinhardtii* показано впервые.

Зимний период в цикле развития средообразующей водоросли урезовой зоны

Байкала *Ulothrix zonata* Kützing

Волкова Екатерина Александровна

(Иркутский государственный университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Иркутск, cathvolkova@mail.ru)

Макроводоросли играют важную роль в жизни Байкала, оказывая влияние на кислородный и биогенный режим прибрежья, являясь основным источником первичной продукции в этой зоне, пищей и убежищем для донных беспозвоночных. Несколько видов макроводорослей образуют в озере массовые скопления, так называемые растительные пояса, их пять. В первом поясе средообразующим видом является *Ulothrix zonata*.

С помощью световой и сканирующей электронной микроскопии изучены стадии развития вида и изменения морфологии клеток в течение сезонного цикла как в природной популяции, так и в условиях культуры. Параллельно контролировались параметры среды обитания.

Как следует из литературных источников, относительно хорошо изучена биология байкальского представителя в летний период и ничего не известно о том, как он сохраняется в зимний, и что служит источником весенней вегетации следующего года. Наши исследования показали, что конец вегетации приходится на ноябрь-начало декабря. Это период штормов, резкого падения температуры воды в прибрежье озера и длины светового дня. В декабре и на дне озера, и в культуральных сосудах, и аквариумах отмечались лишь отмирающие и пустые нити улотрикса. В конце января в культуральных сосудах были найдены первые «проростки» коротких нитей водоросли. Их появление совпало по времени с периодом увеличения светового дня. Найдены «проростки» 2-х типов: 1) короткие инициальные нити, прорастающие из апланоспор «дубинкообразной» зиготы (стадия кодиолум); 2) проростки, в нитях которых при микроскопировании видны сегменты с клетками, но эти сегменты отделены друг от друга 1-2 пустыми клетками. Сегменты по форме сходны с «проростками» из апланоспор. Таких сегментов в нити может быть несколько. Мы не нашли в литературных источниках описания таких нитей. Размеры клеток первого урожая следующего года в несколько раз меньше (до 3-х) размеров клеток из осенней популяции.

Как показали исследования, улотрикс в неблагоприятный период сохраняется в виде стадии кодиолум, но есть и еще другой способ, требующий дальнейшего изучения.

Автор благодарен своим руководителям д.б.н. Бондаренко Н.А. и д.б.н. Тимошкину О.А. за помощь при проведении работы. Работа проведена в рамках темы исследования лаборатории биологии водных беспозвоночных Лимнологического института Сибирского отделения РАН «Междисциплинарное исследование заплесковой зоны оз. Байкал».

Первые находки грибов рода *Typhula* в Орловской области

Волобуев Сергей Викторович

(Учреждение Российской Академии наук Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Россия, Санкт-Петербург, sergvolobuev@mail.ru)

Биоразнообразие грибов России изучено крайне неравномерно, и Орловская область остается недостаточно исследованным в этом отношении регионом. Среди афиллофоровых грибов, выявленных на территории области, до настоящего времени отсутствовали представители рода *Typhula* (Pers.) Fr. Род включает клавириоидные базидиомицеты, имеющие простые нитевидные, дифференцированные на ножку и булавовидный гименофор, отрицательно-геотропичные плодовые тела, развивающиеся из склероциев. Большинство видов являются сапротрофами на растительном опаде, но некоторые представители паразитируют на злаках, бобовых и крестоцветных.

В результате обследования лесных сообществ в окрестностях Государственного музея-заповедника И.С. Тургенева «Спасское-Лутовиново» (Мценский район) в сентябре 2010 года автором впервые были найдены в Орловской области 3 вида грибов данного рода. Ниже приводятся сведения о находках с указаниями субстрата, местообитания и номера образца в Микологическом гербарии БИН РАН (LE): *Typhula lutescens* Boud. – на отмершем листе дуба в осиннике с примесью дуба и клена травяном, LE 284566; *T. setipes* (Grev.) Berthier – на разложившемся листе осины в осиннике с примесью клена и березы травяном, LE 284562; *T. spathulata* (Peck) Berthier – на валежной ветви ивы в антропогенном местообитании, пос. Передовик, LE 284572. Несмотря на то, что некоторые представители рода *Typhula* широко распространены на территории России, виды *T. lutescens* и *T. spathulata* впервые отмечены в пределах Среднерусской возвышенности. Дальнейшие исследования микобиоты, несомненно, позволят выявить новые для региона виды тифуловых грибов, а также обнаружить новые местообитания для уже зарегистрированных.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 09-04-01064а). Автор выражает благодарность своему научному руководителю проф. М.А. Бондарцевой за всестороннюю поддержку и помощь в работе.

Изучение особенностей восстановления фотосинтетической активности лишайников Звенигородской биологической станции

Деркач Ирина Сергеевна, Белозерова Л.И., Конохов И.В.

(Московский Государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, кафедра биофизики, Россия, Москва, rchelinskij@mail.ru)

Лишайники обладают как высокой устойчивостью к изменениям физико-химических свойств среды обитания, так и высокой чувствительностью к загрязнению. Это делает данные организмы перспективным объектом для проведения биоиндикации окружающей среды. Однако механизмы процессов, происходящих в лишайнике при изменении внешних условий, изучены недостаточно, что мешает их широкому использованию в качестве биоиндикаторов. Одним из важных процессов является восстановление способности к фотосинтезу после глубокого обезвоживания при высокой инсоляции. В нашей работе исследуются особенности этого механизма, а также возможные нарушения в его работе при действии различных токсикантов.

Для исследования были выбраны наиболее характерные для окрестностей Звенигородской биологической станции виды лишайников, а именно *Hypogymnia physodes*, *Parmelia sulcata*, *Xanthoria parietina*, *Physcia sp.* и *Peltigera sp.*

В ходе работы были получены кривые индукции флуоресценции для этих лишайников, как нативных, так и подвергавшихся обезвоживанию, высокой инсоляции и интоксикации. Также в ходе экспериментов были получены спектры поглощения талломов для оценки пигментного состава, спектры отражения талломов и графики зависимости параметров флуоресценции хлорофилла от интенсивности падающего света для оценки параметров фотосинтеза.

На основании проведённых исследований выявлено, что образцы лишайников, обитающие в хорошо освещённых местах, более устойчивы к высушиванию при сильной инсоляции, чем образцы того же вида, обитающие в затенённых местах.

Из анализа спектров отражения следует, что возможными механизмами защиты от избыточного освещения у лишайников служат рост показателя рассеяния и изменение окраски при высушивании таллома.

Установлено, что в сухом состоянии устойчивость лишайников значительно выше, чем в условиях нормальной оводненности.

Также обсуждаются механизмы адаптации к различным условиям обитания у различных видов лишайников в зависимости от их экологии: например, низкий уровень корреляции между удельным количеством каротиноидов и эффективностью нефотохимического тушения позволяет судить о наличии у тенелюбивой *Peltigera sp.* большого количества каротиноидов, не принадлежащих ксантофилловому циклу и выполняющих светособирающую функцию.

Рост и развитие микромицетов на строительных материалах и оценка их грибостойкости

Калашникова Кристина Андреевна

(Московский Государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет Россия, Москва, kri2012@yandex.ru)

В настоящее время практически все материалы в той или иной степени подвержены биокоррозии.

Целью работы явились исследования ряда широко используемых строительно-отделочных материалов (обои 3х видов: виниловые, флизелиновые (немецкие), флизелиновые (российские) с импортными пластификаторами, теплоизоляционный материал, стеклохолст, цемент, гипс, гипсокартон (г/к) на грибостойкость и оценка роста и развития плесневых грибов на 3х питательных средах (агаризованная среда Чапека (ЧА), сусло-агар (СА), жидкая среда Гетчинсона) с добавками веществ, входящих в основу большинства строительных материалов (целлюлоза ДЭАЭ, КМЦ (карбоксиметил-целлюлоза), крахмал, сухие смеси: гипс (г/с), г/к, шпаклевка, цемент). Тест культуры отобраны согласно ГОСТу 28206 – 89. Испытания на грибостойкость материалов проводили

по методике, приведенной в ГОСТе 9.049-91. Оценку проводили по 6-балльной шкале, анализ роста и развития – по инкубации грибов на средах с добавками в течение 28-34 суток при 20°C. Параллельно исследовали галотолерантность грибов (на 1,75М р-рах CaCO₃, CaSO₄, Na₂CO₃) и их взаимоотношения друг с другом при парных посевах. Проведенные эксперименты показали, что:

1. Стеклохолст в наибольшей степени подвержен воздействию грибов при относительной влажности воздуха 95% – в среднем 3.43 балла, при 97% - 1,15, а при 77% сохраняет абсолютную грибостойкость, теплоизоляционный материал при 77% - 2,7, при 97% - 2,95, а флизелиновые обои можно считать грибоустойчивыми при всех уровнях влажности, используемых в опытах;

2. На обрастание материалов большое влияние оказывает относительная влажность воздуха, влагоемкость материала, состав субстрата;

3. В опытах с различными добавками отсутствовал рост *Alt. alternata* на СА+КМЦ, ЧА+ДЭАЭ, ЧА+КМЦ; *Asp. niger* - на ЧА+КМЦ, ЧА+крахмал, ЧА+г/к, ЧА+г/с, ЧА+шпаклевка, ЧА+цемент (сомнительный рост); *Pen. chrysogenum* – на ЧА+крахмал, ЧА+ДЭАЭ (сомнительный рост), ЧА+г/с; *Pen. funiculosus* – на ЧА+цемент;

4. Тест культуры – слабые галотолеранты: в р-рах солей ни один из 10 видов грибов не развился;

5. Антибиотическая активность отмечена у видов *Asp. terreus*+ *Pen. chrysogenum*, *Ch. globosum*+ *Pen. ochrochloron*, *Pen. ochrochloron*+ *Paec. varioti*.

Ведущий фактор в биоповреждении материалов – гидротермический режим, поэтому его необходимо поддерживать на постоянном уровне.

Влияние гуминовых веществ на рост базидиальных грибов

Кляйн Ольга Ивановна

(Учреждение Российской Академии наук Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Россия, Москва, klein_olga@list.ru)

Гуминовые вещества (ГВ) представляют собой основной резервуар стабильного углерода в почве. Поэтому изучение процессов взаимодействия ГВ с почвенной микрофлорой является актуальной задачей современной науки. Целью работы было исследование влияния ГВ на базидиальные грибы – основные биодеструкторы природных труднодеградируемых полимеров.

Для оценки влияния ГВ на рост и развитие базидиомицетов проводили глубинное жидкофазное культивирование гриба *Trametes maxima* (Wulf. Ex. Fr. Quel.) в течение 7 сут. на богатой питательной среде (г/л: глюкоза 10,0; пептон 3,0; KH₂PO₄ 0,6; ZnSO₄×7H₂O 0,001; K₂HPO₄ 0,4; FeSO₄×7H₂O 0,0005; MnSO₄×5H₂O 0,05; MgSO₄×7H₂O 0,5) и бедной среде аналогичного состава, но без глюкозы. В качестве ГВ использовали ГВ угля в концентрации 50 мг/л; время экспозиции составляло 24 ч. При проведении экспериментов оценивали влияние ГВ на интенсивность клеточного дыхания и углеводный состав цитозоля.

Было установлено, что при добавлении ГВ наблюдается интенсификация дыхания гриба в 1,5 и 3,6 раза на бедной и на богатой средах соответственно. Исследование влияния ГВ на углеводный обмен показало снижение содержания глицерина в цитозоле на 89 и 35% и рост содержания глюкозы на 21 и 44% на бедной и на богатой средах соответственно, что указывает на усиление процессов биосинтеза. Содержание трегалозы в присутствии ГВ уменьшилось на бедной среде на 10% и на богатой 39%, что свидетельствует об адаптивной активности ГВ. Полученные результаты указывают на способность ГВ стимулировать рост базидиомицетов как на бедной так и на богатой среде. Можно высказать предположение, что ГВ частично трансформируются в процессе культивирования базидиомицетов и используются в качестве источника углерода.

Работа подготовлена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (ГК П211).

Видовой состав возбудителей альтернариоза картофеля и томата

Кокаева Людмила Юрьевна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, lud.milka@bk.ru)

Альтернариоз – опасное заболевание картофеля и томата, вызываемое несовершенными грибами рода *Alternaria*. Оно распространено практически во всех картофелеводческих регионах мира и при благоприятных погодных условиях вызывает существенное снижение урожая.

В работе исследованы изоляты возбудителей альтернариоза, выделенные в 2007–2010 годах с пораженных образцов картофеля и томата в Ленинградской, Московской, Астраханской, Костромской и Смоленской областях.

Морфологическое исследование выделенных с картофеля российских изолятов мелкоспорных *Alternaria* показало присутствие нескольких видов – *A. alternata*, *A. tenuissima* и комплекса видов *A. infectoria*. Предварительные исследования, проведенные нашим коллективом в разных регионах России, также выявили морфологическое разнообразие в группе мелкоспорных *Alternaria*.

Ранее в исследованиях видового и внутривидового полиморфизма фитопатогенных грибов, было показано, что скорость эволюции межгенных спейсеров области транскрибируемых рибосомных генов ITS позволяет использовать эти участки генома в качестве молекулярных маркеров для оценки изменчивости внутривидовых структур. Для филогенетических исследований нами был взят участок генома, ограниченный праймерами ITS4 и ITS5, включающий 5,8S рДНК, как один из наиболее полиморфных. В результате секвенирования этого участка у всех исследованных изолятов были выявлены практически полностью идентичные последовательности нуклеотидов, различающиеся единственной делецией основания Т в 508 положении у двух штаммов, морфологически соответствующими виду *A. alternata*. У остальных 10 штаммов, морфологически соответствующих видам *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *A. arborescens*, различий по нуклеотидному составу выявлено не было. Таким образом данные, полученные в результате определения последовательности нуклеотидов, свидетельствуют о принадлежности мелкоспорных штаммов к одному виду.

По предварительным результатам аналогичных исследований крупноспорных штаммов предполагается, что они относятся к одному виду *Alternaria solani*.

Автор выражает благодарность своему научному руководителю С.Н. Еланскому, а также сотрудникам кафедры микологии и альгологии М.А. Побединской и А.В. Александровой.

Характеристика долгоживущих и бессмертных изолятов *Podospora anserina*, полученных методом продолжительного глубинного культивирования

Кудрявцева Ольга Александровна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, for-ol-ga@yandex.ru)

Аскомицетный гриб *Podospora anserina* (Rabenh.) Niessl – один из немногих видов грибов, дикие штаммы которого подвержены выраженному старению и смерти. Используя метод длительного культивирования мицелия в жидкой аэрируемой среде, осуществляемый за счет серийных пассажей, мы получили 22 долгоживущих изолята *P. anserina*. Их непрерывный рост на агаризованной среде поддерживали от 147 до 252 суток от момента отсева из глубинной культуры до остановки эксперимента, в то время как исходные штаммы, культивируемые исключительно поверхностно, прожили (от прорастания аскоспоры до остановки роста и отмирания мицелия) около 20 суток.

У 8 долгоживущих изолятов *P. anserina* полностью отсутствовали признаки старения на всем протяжении их роста. У остальных изолятов наблюдали от 1 до 6 кризисов старения – периодов, сопровождающихся временным снижением скорости роста и уменьшением формирования воздушных гиф. Амплификация основного фактора старения *P. anserina* –

последовательности α -senДНК – у долгоживущих изолятов была выражена слабо, как у молодых диких штаммов, либо полностью отсутствовала. Изоляты *P. anserina* характеризовались рядом признаков, передающихся потомкам от скрещивания с дикими штаммами, а именно: женской стерильностью, измененной макроморфологией мицелия, отсутствием меланина и синтезом каротиноидов на свету.

Один из исследуемых изолятов *P. anserina* – V2-s1-IV(2) – является бессмертным. Было показано, что подавление программы старения и смерти мицелия обусловлено у данного изолята наличием в его митохондриальном геноме делеции, захватывающая ген *cox1*, в результате чего основная дыхательная цепь не функционирует, а дыхание обеспечивается исключительно за счет альтернативной оксидазы (АОХ). Бессмертный изолят V2-s1-IV(2) продемонстрировал высокий уровень экспрессии АОХ, в 75 раз превышающий контроль, а также устойчивость к добавлению в среду ингибитора комплекса III антимицина А. Среди потомков от скрещивания V2-s1-IV(2) с диким штаммом *P. anserina* также были получены бессмертные мутантные штаммы, у которых инактивирована цитохром *c*-зависимая дыхательная цепь.

Таким образом, продолжительное глубинное культивирование *P. anserina* позволяет получить изоляты с новыми свойствами, несущие разнообразные мутации.

Изучение видового состава и распространение мицелиальных грибов рода *Trichoderma* в Казахстане

Макимова Гульшат Манатовна.

(Республиканская коллекция микроорганизмов Казахстана, Астана, gulshat_vir@mail.ru)

Грибы рода *Trichoderma* имеют большое хозяйственное значение в связи с широким использованием многих видов для получения ферментов, биологически активных веществ и препаратов для защиты растений.

Видовой состав и распространение рода *Trichoderma* в Казахстане изучены не полно, используется устаревшая систематика рода, что не позволяет делать какие-то выводы и соотносить с данными зарубежных исследователей. Нечеткая морфология этого рода и вариабильность признаков затрудняет определение видов *Trichoderma* только по морфологическим критериям. В последнее время исследователи пишут о приуроченности видов *Trichoderma* к определенным субстратам. Так, например, *T. viride* чаще всего встречается на древесине, *T. hamatum* обычно выделяется из почвы, *T. harzianum* обитает преимущественно на плодовых телах грибов.

Целью настоящей работы было, используя молекулярно-генетические методы исследования, провести инвентаризацию видового состава грибов рода *Trichoderma*, распространённых в разных регионах Казахстана и установить их таксономическое положение.

Выделение грибов *Trichoderma* производилось при помощи метода предельных разведений и методом почвенного мелкозема. Идентификация по морфологическим признакам проводилась по ключу Александровой. Дополнительно виды идентифицировали молекулярно-генетическими методами по *ITS*— региону ДНК. Для проведения полимеразно-цепной реакции с микромицетами использовали универсальные праймеры *ITS1* — *ITS4*. Процесс секвенирования *ITS* зоны и анализ полученных данных с использованием программного обеспечения SeqScanner, Vector NTI Advands 10 и базы данных *GenBank*, *TrichOKEY* позволил определить с вероятностью 98-100% видовую принадлежность штаммов *Trichoderma*, выделенных на территории Казахстана.

Анализ образцов почвы, подстилки, мертвой древесины из различных областей Казахстана привел к идентификации 78 штаммов грибов рода *Trichoderma*, относящихся к 8 видам. Наиболее разнообразный видовой состав характерен для черноземных почв Алматинской области. Для Северо-Казахстанской области характерно доминирование *T. harzianum*. В Акмолинской области было выделено больше всего грибов рода *Trichoderma*. Типы почв были представлены черноземами, луговыми целинными, темно-каштановыми, болотными. Меньше было выделено грибов рода на территории Южно-Казахстанской и

Жамбылской областях, представленной образцами сероземных почв. Не было высеяно ни одного вида из серо-бурых почв Атырауской области.

Обильнее и разнообразнее всего грибы рода *Trichoderma* представлены в почве, где обнаружены все 8 видов. На древесине и коре мертвых деревьев было обнаружено 2 вида — *T.harzianum* и *T.asperellum* (5,2%). Грибы *Trichoderma* обитают преимущественно в лесных почвах. Из лесной почвы было выделено 58,8 % всего материала, в то время как из степной — 16,5%; 18,5% образцов выделены из агроценозов.

На территории Казахстана встречаются 8 видов микромицетов рода *Trichoderma* с доминированием вида *T.harzianum* (54 штамма). На втором месте по распространенности стоит *T.atroviride* (19 штаммов). Виды *T.brevicompactum*, *T.hamatum*, *T.citrinoviride*, *T.virens*, *T.atroviride*, *T.harzianum* на территории Казахстана регистрируются впервые.

**Генотипическое разнообразие вида *Physarum notabile* Т. Масгр. (*Mухомуцетес*) в
аридных районах Евразии**

Окунь Михаил Вадимович

(Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Россия, Санкт-Петербург,
m.okun@hotmail.com)

Согласно литературным данным, вид *Physarum notabile* представляет собой «таксономический центр», объединяющий различные морфотипы, значительно отличающиеся друг от друга по форме, окраске и структуре элементов плодовых тел (спорокарпов), а также окраске и орнаментации спор. Ранее, в различных аридных районах Прикаспийской низменности, Центральной Азии, Центральной Америки с помощью метода влажной камеры нами были найдены спорокарпы микромицетов, морфологически отдаленно напоминающие плодовые тела *Physarum notabile* из лесных сообществ бореальной и умеренной зон. Классический морфологический анализ не дает ясной картины положения данного таксона в системе, так как в нем могут быть использованы только признаки спорокарпов, а признаки трофических стадий (плазмодия, миксамеб) не учитываются. Кроме того, этот анализ затрудняет значительная морфологическая изменчивость изолятов. В связи с этим, нами был использован молекулярно-генетический подход для выявления филогенетических связей между изолятами.

Для проведения филогенетического анализа на основе молекулярных признаков необходимо было оценить степень генетической однородности образцов в исследуемой группе. Последовательности рДНК сравнительно изменчивы; эта область ДНК наилучшим образом подходит для изучения внутривидовой изменчивости, идентификации видов и выявления филогенетических связей внутри вида.

Нами было проанализировано 76 образцов из вышеописанных регионов. Полученные при анализе секвенированных последовательностей дендрограммы свидетельствуют о наличии корреляции между географическими расстояниями и генетическими характеристиками исследуемых изолятов. Изоляты, относящиеся к одному и тому же региону, формируют отдельные кластеры. Полученные данные подтверждают эффективность молекулярно-генетического метода анализа в систематике и филогении микромицетов на родовом и видовом уровне, а также возможность использования метода для сравнительного филогенетического анализа как географически близких, так и удаленных изолятов.

Мы предполагаем, что упомянутые формы из аридных районов являются либо одним морфологическим видом, включающим несколько асексуальных клонов, либо группой близкородственных видов, предварительно условно отнесенных к *P. notabile*. Дальнейшее изучение изолятов из других регионов, а также сравнительный анализ их экологического и морфологического разнообразия помогут выявить корреляции между географическим положением изолятов и морфо-генетическими характеристиками, а также оценить влияние географического расстояния и экологических факторов на дивергенцию популяций этого вида на обширных пространствах Центральной Азии.

**Ингибиторы протеолитических ферментов,
секретируемые энтомопатогенным грибом *Tolyrocladium cylindrosporum* W. Gams
Попова Варвара Вячеславовна**

(Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва,
varya.chizhik@gmail.com)

Протеолитические ферменты, секретируемые грибами, широко используются в фундаментальных исследованиях, медицине и народном хозяйстве. Однако механизмы регуляции работы грибных пептидаз остаются не достаточно изученными. Одним из способов контроля работы протеолитических ферментов является использование их природных и синтетических ингибиторов.

Целью представленной работы стали поиск и изучение ингибиторов пептидаз у энтомопатогенного гриба *T. cylindrosporum* W. Gams.

В ходе работы показано наличие в культуральной жидкости гриба *T. cylindrosporum* ингибиторов цистеиновых (бромелаин, папаин) и сериновых (трипсин, субтилизин) пептидаз. Гриб выращивали на среде Чапека, модифицированной добавлением различных источников азота (KNO_3 , NH_4NO_3 , желатина, триптон) и углерода (сахароза, фруктоза), в течение 10 суток. Показано, что на среде Чапека, модифицированной добавлением триптона и сахарозы, секреция фермента и ингибиторов грибом *T. cylindrosporum* оптимальна. При этом пик ферментативной активности приходится на 7 сутки культивирования. Бромелаин, папаин и трипсин максимально ингибировались препаратами 3-дневной культуральной жидкости, а субтилизин – 5-дневной.

Проведенные исследования показали, что *T. cylindrosporum* секретирует белок (50 кДа), ингибирующий субтилизин. В частности, ингибитор действует на бактериальный субтилизин и на субтилизиноподобный фермент, секретируемый грибом *Sesquicillium microsporum* (Jaap) Veenb.-Rijks & W. Gams. Однако ингибитор не подавляет активности субтилизиноподобных ферментов близкородственных видов *T. inflatum* W. Gams и *T. geodes* W. Gams. В ходе работы изучены некоторые физико-химические свойства ингибитора субтилизина. Вместе с тем, биохимическими методами установлено, что обнаруженные в культуральной жидкости ингибиторы бромелаина, папаина и трипсина имеют, по-видимому, небелковую природу.

Наличие исследуемых ингибиторов пептидаз у *T. cylindrosporum* предположительно связано с охраной необходимых ему пищевых ресурсов, или инактивацией защитных барьеров насекомого-хозяина.

Работа поддержана грантом РФФИ (10-04-00739)

**Сообщества галотолерантных микромицетов из мест природного засоления
Смолянюк Евгения Владимировна**

(Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Биологический
факультет, Россия, Москва, esmol@yandex.ru)

Местообитания с высокими и чрезвычайно высокими концентрациями хлорида натрия, представлены в природе гиперсолеными водоемами, засоленными аридными почвами (солончаками, солонцами и др.), местами природной добычи соли. Высокие концентрации солей в окружающей среде обуславливают стресс, связанный с низкой доступностью воды.

В задачи данного исследования входило выделение сообщества галотолерантных видов грибов, из мест природного засоления. Образцы были отобраны в г. Поморие (Черноморское побережье Болгарии), в г. Эйн Бокек (побережье Мертвого моря, Израиль) и на побережье озера Баскунчак (Астраханская область, Россия). Выделение микромицетов проводилось на селективных питательных средах с концентрациями 10 - 20% NaCl.

Из всех исследованных нами образцов засоленных почв на селективных средах наиболее часто выделяются виды родов *Penicillium* (*P. rugulosum* Thom, *P. miczynskii* K.M. Zalesky, *P. citrinum* Thom, *P. lanosum* Westling), *Aspergillus* (преимущественно из группы *Glaucus*), *Cladosporium* (*C. halotolerans* Zalar, de Hoog & Gunde-Cim, *C. salinae* Zalar, de Hoog & Gunde-Cim), а также темноокрашенные дрожжеподобные виды *Phaeothea triangularis* de Hoog & Beguin, *Trimmatostroma salinum* Zalar, de Hoog & Gunde-Cim. Подобный состав видов

отмечали исследователи засоленных почв в различных регионах, что, свидетельствует об относительном постоянстве состава видов независимо от географического положения местообитания. Сходный состав демонстрируют и сообщества микромисцетов поверхности скал, аридных и мерзлотных почв, ледников, засоленных вод. Все эти местообитания характеризуются ионным и осмотическим стрессом, связанным с низкой доступностью воды.

Таким образом, сообщество микромисцетов гиперсоленых местообитаний зависит от географического положения в меньшей степени, чем от физико-химических параметров среды обитания, и имеет много общих видов с грибными сообществами прочих местообитаний с низкими показателями активности воды.

Разнообразие микобионтов, ассоциированных с подземными органами *Dactylorhiza maculata* (L.) Soo (Orchidaceae)

Холмогоров Сергей Владимирович , Первушина К. А.

(Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Россия, Ярославль, serg_kholm@mail.ru)

В настоящее время понимание микосимбиотических отношений у орхидных меняется в сторону их трактовки как многокомпонентной системы, включающей наряду с доминантным грибным компонентом и ряд ассоциативных. В большинстве работ по микоризе орхидных недостаточное внимание уделяется микобионтам, ассоциированным с их подземными органами, но не являющимися микоризообразующими. Их численность, разнообразие и роль до настоящего времени остаются мало изученными. Однако, для представителей семейства Orchidaceae значение микотрофии чрезвычайно велико, как в момент прорастания семени, так и на протяжении дальнейшего онтогенеза. В настоящей работе таксономический состав микобионтов прикорневой зоны *Dactylorhiza maculata* устанавливали с помощью метода маркерного анализа по составу жирнокислотных маркеров в липидных профилях почвенных проб ризосферы и ризопланы, а также при исследовании штаммов, выделенных из подземных органов, на питательную среду Клемента (Clements et al., 1986).

Впервые для *D. maculata* установлена биомасса грибов в ризоплане подземных органов, ризосфере придаточных корней и окончаний тубероидов, составляющая 92, 76 и 64 мкг/г почвы соответственно. Более 95% грибов прикорневой зоны представлены микромисцетами рр. *Gigaspora*, *Glomus* и *Scutellospora*. Представители р. *Aspergillus* составляют 2 – 4% от всех грибов, дрожжи – не более десятых долей процента. При удалении от ризопланы к ризосфере придаточных корней и окончаниям тубероидов, наиболее существенно (в 200 – 300 раз) увеличивается присутствие вида *Glomus etunicatum*. При этом количество прочих представителей этого рода, а также рр. *Scutellospora* и *Gigaspora* незначительно (в 1,1 – 1,2 раза) снижается, как, впрочем, и грибов р. *Aspergillus* (в 1,5 – 2 раза). Известно, что рр. *Gigaspora*, *Glomus* и *Scutellospora* участвуют в образовании арбускулярной микоризы, а представители р. *Aspergillus* отмечены как микобионты корней орхидных. Определение штаммов микобионтов, изолированных на питательной среде, позволило отнести их к одному роду – *Trichoderma sp.* Его представители типичны для большинства почв и могут участвовать в симбиозе с растениями, в том числе орхидными.

Работа выполнена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», госконтракт № П271.

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

Изучение фитопланктона водохранилищ Донецкой области

Внуков Станислав Юрьевич

(Донецкий национальный университет, Биологический факультет, Украина, Донецк, wwwwwwwww6@rambler.ru)

Донецкая область относится к аридным областям Украины с недостаточно разветвленной гидрографической сетью, и для увеличения водообеспечения в этой области

создаются искусственные водохранилища. Именно к таким типам водохранилищ относятся Клебан – Быкское, Старобешевское и Кураховское водохранилища.

Целью представленной работы являлось определение видового состава фитопланктона в указанных водохранилищах.

Исследования показали, что в составе фитопланктона Клепан-Быкского, Старобешевского и Кураховского водохранилищ отмечено 74 вида (30 родов, 23 семейства), относящиеся к четырем отделам: *Cyanoprocarota* (18 видов), *Euglenophyta* (5), *Bacillariophyta* (21) и *Chlorophyta* (30). Наибольшее число видов отмечено в отделе *Chlorophyta*.

Наибольшее видовое разнообразие характерно для Кураховского водохранилища – отмечены водоросли, принадлежащие к 51 виду. Наиболее типичными для этого водохранилища являются водоросли *Microcystis pulvereae* Forti emend. Elenk., *Navicula cryptocephala* Kütz., *Nitzschia hantzschianae* Rabh., *Tetraedron triangulare* Korschikoff, *Scenedesmus acutus* Meyen.

Для Клебан- Быкского водохранилища было отмечено 46 видов водоростей, из них наиболее типичными были *Microcystis aeruginosa* Kutz., *Oscillatoria nitida* Schkorb., *Euglena proxima* Dang., *Synedra ulna* Ehr., *Navicula rhynchocephala* Kütz., *Pediastrum duplex* Meyen., *Oocystis borgei* Snow., *Scenedesmus acutus* Meyen.

Старобешевское водохранилище характеризовалось 46 отмеченными видами, из которых наиболее представленными были *Microcystis aeruginosa* Kutz., *Gloeocapsa magma* Kütz. emend. Hollerb., *Diatoma vulgare* Bory, *Nitzschia hantzschianae* Rabh., *Tetraedron triangulare* Korschikoff., *Scenedesmus acutus* Meyen.

Таким образом, в фитопланктоне всех водохранилищ доминировали водоросли, относящиеся к семействам *Scenedesmaceae*, *Naviculaceae*, *Nitzschiaceae*, *Oocystaceae*, *Microcystis*. Доминантные семейства водорослей частично были представлены формами, которые встречаются в пробах на протяжении всего года: *Oscillatoria* Vauch., *Cyclotella* Kütz., *Navicula* Bory, *Cymbella* Ag., *Monoraphidium* Kom.-Legn. и *Scenedesmus* Meyen.

Субдоминантами выступали представители семейств *Oscillatoriaceae*, *Selenastraceae*, *Coscinodiscaceae*.

Чувствительность грибов рода *Botrytis* к фунгицидам

Головченко Людмила Анатольевна

(Центральный ботанический сад НАНБ, Беларусь, Минск, luda_gol@yahoo.com)

В связи с распространенностью и вредоносностью серой гнили декоративных растений в Беларуси возникла необходимость поиска эффективных фунгицидов, обладающих высокой специфичностью в отношении возбудителей заболевания.

В лабораторных условиях изучена чувствительность изолятов *Botrytis cinerea*, *B. elliptica* и *B. tulipae* к фунгицидам амистар экстра, СК (200 г/л азоксистробина и 80 г/л ципроконазола), менара, КЭ (250 г/л пропиконазола и 160 г/л ципроконазола), свитч 62,5 WG, в.г. (375 г/л ципродинила и 250 г/л флудиоксонила), фалькон, КЭ (250 г/л спироксамина, 167 г/л тебуконазола и 43 г/л триадименола), хорус, ВДГ (750 г/кг ципродинила). Чувствительность грибов к фунгицидам определяли при культивировании их на среде Чапека с содержанием 0–0,1–1–10–100 мкг/мл по д.в. Для количественной характеристики чувствительности изолятов к препаратам использовали показатель ЕС₅₀.

Установлено, что изоляты *B. cinerea*, *B. elliptica*, *B. tulipae* проявляют высокую чувствительность к фунгицидам амистар экстра, менара, свитч и фалькон. Показатель ЕС₅₀ (в мкг/мл) для фунгицида амистар экстра варьирует в пределах 0,6–3,9 у *B. cinerea*, 0,3–0,7 у *B. elliptica*, 0,7–1,2 у *B. tulipae*; для фунгицида менара: 0,2–1,2 у *B. cinerea*, 0,6–0,8 у *B. elliptica*, 0,2–0,4 у *B. tulipae*; для препарата свитч: 0,04–0,5 у *B. cinerea*, 0,0002–0,02 у *B. elliptica*, 0,001–0,03 у *B. tulipae*; для фунгицида фалькон: 0,5–3,7 у *B. cinerea*, 0,8–1,3 у *B. elliptica*, 0,2–0,4 у *B. tulipae*. Изоляты *B. cinerea* и *B. tulipae* проявили среднюю чувствительность к фунгициду хорус: показатель ЕС₅₀ (в мкг/мл) составил 25,9–69,3 у *B. cinerea* и 14,9–64,1 у *B. tulipae*.

Таким образом, изоляты *B. cinerea* и *B. tulipae* статистически достоверно более чувствительны к фунгицидам амистар экстра, менара, свитч, фалькон по сравнению с фунгицидом хорус. Отмечено статистически достоверное снижение чувствительности изолятов *B. elliptica* к фунгицидам в ряду свитч–амистар экстра–менара–фалькон. Специализированные виды *B. elliptica* и *B. tulipae* статистически достоверно более чувствительны к фунгицидам амистар экстра, свитч и фалькон, а *B. tulipae* – еще и к препарату менара, по сравнению с изолятами полифага *B. cinerea*.

Содержание свободного пролина и маннита в бурой водоросли *Fucus vesiculosus*

Клиндух Мария Петровна

(Мурманский морской биологический институт, Россия, Мурманск, bluefoxik@mail.ru)

С помощью количественных и качественных изменений на биохимическом уровне водорослям удается адаптироваться к экстремальным и сложным условиям обитания в высоких широтах. Многоатомный спирт маннит и свободная аминокислота пролин, обладая осморегуляторной и криопротекторной функциями, возможно, способствуют данному процессу. Цель исследования – определить содержание маннита и свободного пролина в бурой водоросли *F. vesiculosus* из разных биотопов Мурманского побережья Баренцева моря в разные сезоны года.

Объектом исследования послужили водоросли вида *F. vesiculosus* (L) в возрасте 4+ - 7+ лет, собранные в экспедициях Мурманского морского биологического института в 2009 - 2010 годах. Содержание маннита определяли методом обратного титрования, содержание свободного пролина – по методу Байтса (L.S. Bates).

Наименьшее содержание маннита в *F. vesiculosus* наблюдается в зимний период, а наибольшее – в осенний. В районах сбора, подверженных опреснению, содержание маннита в водорослях ниже на 3-4 %, по сравнению с районами, где колебания солёности невелики. Влияние антропогенного фактора на содержание маннита выявить не удалось. Наименьшее содержание пролина наблюдается в осенний период, к весне его количество повышается, а в летний период снижается, но в некоторых районах сбора осенью и весной содержание пролина одинаково. Наблюдается значительное повышение содержания свободного пролина у *F. vesiculosus* из отдельных биотопов. Зависимости содержания свободного пролина от опреснения в ходе данного исследования выявлено не было.

Сезонные изменения содержания маннита у водоросли фукус пузырчатый из разных биотопов Мурманска характерны для бурых водорослей и связаны с его функциями, как запасного углевода. Снижение количества маннита под влиянием опреснения подтверждает его предполагаемые осморегуляторные функции в клетках бурых водорослей. Значительное весеннее повышение содержания свободного пролина у *F. vesiculosus* из отдельных биотопов может указывать на негативное изменение в условиях обитания водорослей (оледенение литорали, ухудшение качества воды). Возможно, пролин выполняет роль криопротектора в клетках *F. vesiculosus* в период гидрологической зимы и низких температур. Антропогенное загрязнение, вероятно, вызывает аккумуляцию свободного пролина в водорослях.

Видовая характеристика фитопланктона прудов г. Донецка (Украина)

Омельяненко Марина Юрьевна

(Институт ботаники им. М.Г. Холодного НАН Украины, отдел фикологии, Украина, Киев, mari_om@land.ru)

Донбасс – это крупный промышленный регион Украины. Альгофлора прудов г. Донецка, находящихся в экстремальных техногенных условиях, ранее не была изучена, хотя пруды являются природными вместилищами видов водорослей и интересными, важными объектами для изучения альгоразнообразия региона.

Материалом послужили альгологические пробы фитопланктона (более 120), собранные в прудах г. Донецка в 2007 – 2010 гг. Сбор материала проводили общепринятыми методами. Пробы изучали в живом и фиксированном состоянии на световых микроскопах МБР-3 и МБИ-3.

В результате проведенных исследований в прудах г. Донецка впервые выявлено 153 вида (165 внутривидовых таксонов) 7 отделов (*Cyanoprocarcyota*, *Euglenophyta*, *Chrysophyta*, *Xantophyta*, *Bacillariophyta*, *Dinophyta*, *Chlorophyta*), 11 классов, 38 семейств, 86 родов. Наибольшим видовым богатством характеризовались отделы *Chlorophyta* (64 вида) и *Bacillariophyta* (62 вида). Отдел *Cyanoprocarcyota* насчитывал 18 видов. Остальные отделы были представлены меньшим количеством видов.

В пробах по частоте встречаемости (2-3 по шкале Стармаха) отличались представители отделов *Bacillariophyta* и *Chlorophyta*, а именно виды *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimer et F. W. Lewis, *Navicula microcephala* Grunow in Cleve, а также *Pediastrum boryanum* (Turpin) Menegh., *Oocystis borgei* Snow. Среди синезеленых водорослей в прудах г. Донецка высокую частоту встречаемости имели виды *Microcystis aeruginosa* (Kütz.) Kütz. и *Merismopedia tenuissima* Lemmerm.

Интересно отметить представителей отделов *Chrysophyta* (*Dinobryon sertularia* Ehrenb.), *Xantophyta* (*Chlorosaccus fluidus* Luther, *Heterothrix tribonemoides* Pascher.) и *Dinophyta* (*Gymnodinium uberrimum* (G. J. Allman) Kof. et Swezy, *Woloszynskia pascheri* (Süchl.) Stosch.), которые выявлены для данной территории впервые.

Биоиндикационный анализ состава альгофлоры показал, что исследованные пруды г. Донецка по степени сапробности относятся к β -мезосапробной зоне (зоне умеренного загрязнения с обратимыми изменениями в экосистеме), что соответствует III - IV классу качества воды. По данному показателю экосистема водных объектов находится в зоне риска, что свидетельствует о негативном влиянии антропогенного фактора и возможности ухудшения экологического состояния прудов.

Структура микромицетного состава почвы в ризосфере яровой пшеницы в зависимости от способа обработки почвы

Осетрова Елена Петровна

(*Марийский Государственный Университет, Россия, Йошкар-Ола, elena-7355@mail.ru*)

В технологическом процессе выращивания зерновых культур на качество продукции влияет много факторов, важнейшим из которых, согласно литературным данным, является агротехника (особенно обработка почвы) и защита от вредных организмов. Считается, что повышение численности почвенных микромицетов способствует росту утомляемости почвы, в этом случае ее фитотоксичность проявляется уже в период всходов. При этом изменяется соотношение между отдельными группами и сообществами микроорганизмов с доминированием фитопатогенных видов.

Исследования проводились на дерново-подзолистых почвах опытного поля Марийского Государственного Университета, где схема полевого опыта включала 3 варианта: дискование (поверхностное рыхление); культивация (плоскорезная обработка); вспашка (обычная зяблевая отвальная вспашка). В лабораторных условиях проводили микробиологический анализ образцов почвы для установления количественного и видового состава микромицетов.

Их патогенных грибов были выделены грибы *Bipolaris sorokiniana* Sacc. и рода *Fusarium*, *Alternaria*. Кроме них нами выделены грибы, которые мы отнесли к сапротрофным грибам: грибы из рода *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Rizopus nigricans* Her., *Mucor piriformis* Fisch. А также грибы-антагонисты *Trichoderma lignorum* Tode. Harz.

Результаты исследований показали, что численность всех грибов, в пахотном слое почвы изменяется в зависимости от способов обработки. Количество грибов в почве в фазе кущения наибольшим было на культивации. По сравнению с дискованием количество грибов превышает на 5,7 тыс. шт. КОЕ на 1 г почвы. По сравнению со вспашкой выше на 4,8 тыс. шт. КОЕ на 1 г почвы. Увеличение произошло за счет патогенных грибов. По сравнению со вспашкой увеличение патогенов было в 1,5 раза, а по сравнению с дискованием – в 1,2 раза. Наименьшее количество патогенов было в варианте со вспашкой (7,1 тыс. шт. КОЕ на 1 г почвы).

Исследование степени развития эктомикоризы на корнях *Pinus silvestris* в условиях Ильменского Государственного Заповедника и Челябинского Городского бора

Первакова Анастасия Александровна

(ГОУ ВПО Челябинский Государственный Университет, Россия, Челябинск, nastya_perv_90@mail.ru)

Значительный вклад в нарушение экосистем городских лесополос и особо охраняемых природных территорий вносит активное и нерациональное использование их как рекреационного ресурса. Для выявления степени воздействия антропогенной нагрузки на коренную растительность может быть использован уровень микоризации растений, позволяющий определить изменение системообразующих связей между организмами одного фитоценоза и оценить отклонение от естественного состояния у лесных древесных пород на исследуемой территории. Объектом изучения являются всходы сосны обыкновенной (*Pinus silvestris*) возрастом от 1 до 3 лет, собранные в сходных фитоценозах на территориях Челябинского Городского бора и Ильменского Государственного Заповедника. С каждого локалитета было отобрано по 10 образцов растений, извлеченных из почвы, с максимальным сохранением корневой системы. При камеральной обработке, согласно методике Великанова (1980), использовались корни растения толщиной не более 500-600 мкм, общей длиной — 20 см. Для определения степени микоризации корня использовалась пятибалльная шкала по И.А. Селиванову (1973). Было проанализировано 20 образцов с обоих локалитетов. Просмотрено 2000 полей зрения с присвоением соответствующего балла. Оценку статистической значимости различий в степени микоризации производили по усредненным в пределах одного растения показателям. Полученные таким образом значения сравнивались с помощью U-критерия Манна-Уитни. В результате математической обработки данных степень микоризации корней *Pinus silvestris* в Ильменском Государственном Заповеднике составила – $0,95 \pm 0,111$ балла, а на территории Челябинского Городского бора – $2,60 \pm 0,063$ балла. Таким образом, неблагоприятные экологические условия растение компенсирует более высоким уровнем развития микоризы. Причем, степень развития микоризы действительно может являться критерием оценки уровня антропогенного воздействия на лесные фитоценозы. Используемая методика экономически выгодна и применима на практике благодаря доступности реактивов и оборудования. Из полученных результатов также можно предположить, что взаимоотношения симбионтов изменяются в зависимости от степени нарушенности территории и дальнейшее повышение уровня антропогенной нагрузки может привести к негативным сдвигам в экологическом равновесии экосистем.

ПОДСЕКЦИЯ «МИКРОБИОЛОГИЯ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Характеристика культур лактококков из самоквасных молочных продуктов

Барейко Анна Александровна, Сидоренко А.В.

(Институт микробиологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, ganachka@mail.ru)

Самоквасные молочные продукты издавна используются в питании и способствуют поддержанию здоровья населения. Одними из основных представителей микрофлоры молока являются бактерии рода *Lactococcus*, которые определяют органолептические и физико-химические свойства домашних кисломолочных продуктов. Кроме того, данные микроорганизмы широко используются в качестве стартовых культур в пищевой промышленности, а также при производстве пробиотиков.

Из самоквасных белорусских кисломолочных продуктов выделено 22 культуры молочнокислых бактерий. По результатам первичной идентификации на основании данных фенотипического тестирования к представителям рода *Lactococcus* отнесено 16 культур, которые представляли собой грамположительные каталазоотрицательные кокки, расположенные в цепочках разной длины. Культуры не росли при 45°C (в отличие от энтерококков и стрептококков) и в присутствии 4% NaCl (в отличие от энтерококков), ферментировали глюкозу, лактозу, сахарозу.

Для дальнейших исследований отобрано 4 культуры, характеризовавшихся наиболее активным ростом и кислотообразованием, таксономический диагноз которых был подтвержден результатами определения нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Культуры депонированы в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов.

Изучены свойства лактококков, важные для их практического использования. Установлено, что штаммы сквашивают стерильное молоко через 6-8 ч культивирования при активной кислотности 5,07-5,61 ед. рН. Все исследуемые культуры образовывали экзополисахариды, при этом способность к продукции данных соединений зависела от источника углерода в среде. Исследованные штаммы не утилизировали цитрат с образованием диацетила.

Ряд ценных свойств лактококков, таких как продукция экзополисахаридов и диацетила, могут быть детерминированы плазмидными генами. Исследование плазмидных профилей лактококков показало, что все исследуемые культуры содержали в клетках плазмидную ДНК. Количество и молекулярная масса плазмид у разных штаммов отличалась. Исследованные штаммы содержали от 1-й до 4-х преимущественно крупных (более 23 т.п.н.) плазмид на клетку. Структурная организация и функциональная роль плазмид – предмет дальнейших исследований.

Активация генов окислительного стресса *Escherichia coli*, вызванного воздействием 2,4,6-тринитротолуола

Волкова Анастасия Владимировна

(Казанский Поволжский Федеральный Университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Казань, anastasia_subbotina_ksu@mail.ru)

2,4,6-тринитротолуол (ТНТ, тротил) – труднорастворимое высокотоксичное нитроароматическое соединение. Однако наряду с токсическим стрессом возможен и окислительный стресс, вызванный внеклеточной аккумуляцией активных форм кислорода (АФК) на раннем этапе микробной трансформации тротила: супероксид-аниона (O_2^-); перекиси водорода (H_2O_2) и гидроксильного радикала ($\cdot OH$). В нормальных условиях наличие антиоксидантной защиты позволяет клеткам поддерживать внутриклеточную концентрацию оксидантов на безопасном уровне. Целью данной работы является оценка воздействия ТНТ на активацию генов, ответственных за нейтрализацию окислительного стресса.

Объектом исследования служили инженерные штаммы *Escherichia coli* TN521, QC772, NM122, MN23 и MN33 – дериваты дикого типа *Escherichia coli* K12, у которых гены

soxR⁺soxS, *sodA*, *gor*, *katG* и *katE* лигированы с *lacZ*, соответственно. Вследствие этого, об экспрессии данных генов судили по уровню активности β-галактозидазы.

Все исследуемые штаммы оказались способными трансформировать ТНТ (100 мг/л). Под воздействием ТНТ активность генов регулона *soxRS* и *sodA* возрастала на протяжении всего времени инкубирования и достигала максимального значения к 100 мин. Известно, что *sodA* находится под контролем двухкомпонентной системы *soxRS*, одним из главных индукторов которой является супероксидный анион. Повышение экспрессии одновременно обоих генов свидетельствует о том, что в результате трансформации ТНТ в клетках накапливается супероксид-анион. В отличие от генов регулона *soxRS* и *sodA*, максимальная активность каталаз, которые кодируются генами *katG* и *katE*, наблюдалась на первых 20 мин. инкубирования. Уровень активности генов клеток опытного варианта в 1.5-2 раз превышал контроль. Активность гена *gor* (кодирует глутатионредуктазу) в контроле оказалась невысокой. Под действием ТНТ наблюдалось увеличение активности в 2 раза на 20 мин. инкубирования. Следует отметить, что максимальная скорость трансформации ТНТ наблюдается именно в первые 20 мин. инкубирования, что, вероятнее всего, приводит к высокой генерации перекиси водорода, в детоксикации которой участвуют как каталазы, так и восстановленный глутатион. Этим, скорее всего, и объясняется высокий уровень каталаз и глутатионредуктазы в присутствии ТНТ в первые минуты инкубирования.

Протеиназы бацилл как перспективные тромболитические препараты

Данилова Юлия Васильевна, Рудакова Н.Л.

(Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Казань, Danilova146@mail.ru)

Интерес к микробным ферментам и, в частности, к протеиназам бацилл, объясняется недостаточной способностью известных и хорошо изученных протеолитических ферментов животных и растений полностью удовлетворять текущие жизненные потребности населения планеты. В связи с тем, что ряд опасных заболеваний, таких, как инсульты, инфаркты, тромбозы и др. связан с возникновением тромбов, в фокусе современной медицины – разработка новых эффективных тромболитических препаратов, в том числе на основе ферментов бактериального происхождения. Нами были получены ферменты бацилл, изучены их каталитические, энзиматические и физико-химические свойства. Основной задачей явилось исследование способности сериновых протеиназ лизировать преобразованный тромб (тромболитическая активность) и препятствовать формированию тромба (антикоагулянтная активность).

В данной работе были подобраны условия культивирования рекомбинантных штаммов бацилл для эффективной продукции ферментов. Результаты работы могут быть использованы при разработке стратегии синтеза ферментов промышленными штаммами бактерий. Получение гомогенных препаратов ферментов увеличивает арсенал белков, используемых в научных исследованиях и в практических целях, в связи с этим была проведена эффективная очистка протеиназ. Изучив различные свойства гомогенных препаратов ферментов, более подробно остановились на исследовании таких, как тромболитические и антикоагулянтные свойства протеиназ. Данные исследования проводились *in vitro* на плазме крови человека. Результатом работы является выявление ярко выраженной способности сериновых протеиназ лизировать преобразованный тромб и препятствовать его формированию.

Детекция сульфатредуцирующих бактерий в аэробных водах и зоне хемоклина Черного моря с помощью методов FISH и ПЦР

Корнеева Валерия Алексеевна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический ф-т, Россия, Москва, busenica@yandex.ru)

Черное море является самым крупным меромектическим водоемом, анаэробные воды которого содержат растворенный сероводород, образуемый преимущественно в ходе жизнедеятельности сульфатредуцирующих бактерий (СРБ). Однако предполагается, что

многие аэротолерантные СРБ могут активно участвовать в биогеохимических процессах и в поверхностных аэробных водах Черного моря.

В последнее время одним из наиболее часто применяемых в микробной экологии молекулярно-биологических методов являются полимеразная цепная реакция (ПЦР) и флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) с 16S рРНК-специфичными зондами, меченными флуоресцентным красителем цианином-3. ПЦР позволяет выявить присутствие в пробе даже незначительных количеств специфических фрагментов ДНК искомым микроорганизмов, в то время как с помощью метода FISH можно обнаружить и подсчитать только активно метаболизирующие клетки.

В данном исследовании был проведен анализ распространения сульфатредуцирующих бактерий в аэробных водах и зоне хемоклина Черного моря с помощью методов ПЦР и FISH.

В исследовании водных проб с помощью метода ПЦР с выделенной из отфильтрованных образцов тотальной ДНК были использованы праймеры на ген дисимилационной сульфитредуктазы (*dsr*), а также на гены 16S рРНК шести филогенетических групп СРБ. Было показано присутствие СРБ, относящихся к группам 1 (*Desulfotomaculum*), 5 (*Desulfococcus-Desulfonema-Desulfosarcina*) и 6 (*Desulfovibrio-Desulfomicrobium*), как в аэробных, так и в верхних анаэробных водах Черного моря. Специфических фрагментов ДНК сульфатредуцирующих микроорганизмов, принадлежащих к группам 2 (*Desulfobulbus*), 3 (*Desulfobacterium*) и 4 (*Desulfobacter*), обнаружено не было.

С использованием метода FISH в поверхностных аэробных водах было выявлено значительное количество клеток СРБ, относящихся к родам *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum*, тогда как в зоне хемоклина наблюдалось преобладание представителей рода *Desulfomicrobium*.

Сочетание двух данных молекулярно-биологических подходов позволяет комплексно оценить структуру сообществ СРБ в поверхностной водной толще Черного моря, выявляя как наличие ДНК микроорганизмов из соответствующих филогенетических групп сульфатредукторов, так и присутствие их физиологически активных представителей на различных глубинах.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 10-04-00220-а. Автор выражает благодарность своим научным руководителям д.б.н. Пименову Н.В. и к.б.н. Брюханову А.Л.

Особенности микробного разложения гербицида 2,4-Д культурой *Agromyces* sp. 34DCP

Коробов Владислав Викторович, Анисимова Л.Г., Ясаков Т.Р., Челатканова Е.Н., Романова Н.Б., Маркушева А.М., Половинкина А.Ю.

(Институт биологии УНЦ РАН, Учебно-научный центр УГАТУ и ИБ УНЦ РАН, Россия, Уфа, vacikk@mail.ru)

Известно, что 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота) и ее производные долгое время использовались в качестве гербицидов для химической прополки хлебных злаков. К настоящему времени накоплены данные о том, что 2,4-Д оказывает токсическое воздействие на микробиоту, но вместе с тем в экотопах, подвергавшихся ее воздействию, формируются микроорганизмы, использующие синтетические молекулы в качестве источника питания и энергии.

Целью настоящей работы являлось выявление особенностей нового природного штамма *Agromyces* sp. 34DCP – деструктора гербицида 2,4-Д.

Штамм *Agromyces* sp. 34DCP выделен из смешанных популяций почвенных бактерий. Идентификация штамма проводилась по совокупности морфометрических, физиолого-биохимических и культурально-морфологических признаков.

Установлено, что клетки *Agromyces* sp. 34DCP способны использовать 2,4-Д в качестве источника углерода и энергии. Показано, что к шестым суткам инкубации в периодической культуре *Agromyces* sp. 34DCP содержание гербицида в водной среде снижалось на 69%.

Тестирование образцов культуральной жидкости *Agromyces* sp. 34DCP на проростках кресс-салата (*Lepidium sativum* L.) показало, что в течение 6-12 суток культуральная жидкость становилась безопасной для растений. Полученные данные указывают на то, что

культура *Agromyces* sp. 34DCP способна метаболизировать молекулы 2,4-Д без образования токсичных интермедиатов.

Сравнительный анализ результатов исследований указывает на то, что на примере штамма *Agromyces* sp. 34DCP впервые установлено, что представители рода *Agromyces* способны осуществлять ассимиляцию хлорсодержащих ксенобиотиков ароматического ряда.

Работа выполнена при содействии гранта программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Биоразнообразии и динамика генофондов» на базе Учебно-научного центра УГАТУ и ИБ УНЦ РАН под руководством к.б.н. Журенко Е.Ю. и к.т.н. Кусовой И.В.

Диазотрофно-целлюлолитический комплекс микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте песчанок Калмыкии

Кузнецова Татьяна Александровна

(Учреждение РАН Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова, Россия, Москва, tashka_u@mail.ru)

Способность питаться целлюлозосодержащими кормами с низким белковым содержанием характерна для многих животных. В последние годы микробная азотфиксация в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) показана для некоторых копытных, а также грызунов – некоторых видов полевок, бобра, слепыша. Исследования тесно связанных между собой комплексов микроорганизмов целлюлолитиков и азотфиксаторов в ЖКТ песчанок с разным уровнем потребления зеленых кормов легли в основу данной работы. Для тамарисковой песчанки (*Meriones tamariscinus* Pallas, 1773) характерен смешанный тип питания со значительной долей зеленой массы растений; полуденная песчанка (*M. meridianus* Pallas, 1773) считается зерновой. Образцы отбирали из содержимого преджелудка, а также слепой и ободочной кишок – основных мест локализации симбионтов. Активность азотфиксации определяли газовой-хроматографическим методом; целлюлазную активность – флюориметрически. Для выделения микроорганизмов использовали среду Эшби с добавлением карбоксиметилцеллюлозы. Активность азотфиксации была обнаружена во всех отделах ЖКТ исследуемых видов песчанок, причем ее значения у двух видов достоверно различались (Mann-Whitney U Test $Z = 3.077$, $p = 0.021$), несмотря на значительную вариабельность показателей. У полуденной песчанки во всех перечисленных отделах зафиксирована более высокая нитрогеназная активность, чем у тамарисковой. Соотношение C/N в содержимом преджелудка у тамарисковой песчанки выше, чем у полуденной, что согласуется с большей ролью зеленых частей растений в ее рационе. Оценка общей численности микроорганизмов в содержимом ЖКТ показала, что по количеству микроорганизмов преджелудок обоих видов песчанок превосходит толстый отдел кишечника. Уровни целлюлазной активности в ЖКТ исследуемых видов песчанок сравнимы с данными для других животных. Среди выделенных микроорганизмов преобладали факультативно-анаэробные бациллы, кишечные бактерии и *Bacteroides* spp. Результаты исследования позволяют полагать, что микробная азотфиксация широко распространена среди растительноядных млекопитающих и играет важную роль в их азотном метаболизме, причем не только среди животных, специализированных к питанию бедными кормами.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (10-04-01437, 09-04-01185).

Исследование структуры и функционирования почвенного микробного комплекса городских экосистем

Лунькова Екатерина Юрьевна, Гунина А.А.

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, msu.ecology@gmail.com)

В настоящее время большую научную и практическую значимость приобретает всестороннее изучение экосистем крупных мегаполисов, т.к. концентрация в них антропогенных воздействий и преобразований среды максимальна, и их состояние оказывает непосредственное воздействие на качество жизни человека. Наиболее удобным объектом при исследовании городских экосистем является почвенный покров, т.к. на нем оседают поллютанты из аэрозолей, через него происходит миграция вод, и именно в почвенном

покрове сосредоточена основная микробиологическая активность. Кроме того, он значительно меньше подвержен суточным флуктуациям показателей, чем воздушная и водная среда, и, соответственно, предоставляет более целостную картину антропогенных воздействий и их последствий. В качестве объекта нашего исследования был выбран Национальный Парк «Лосинный Остров», на территории которого на расстоянии 30, 80, 250, 500, 1000 и 1500 метров от московской кольцевой автодороги (МКАД) был осуществлен пробоотбор почв на участках, расположенных под монодоминантной растительностью *Tilia cordata*. В качестве критериев оценки физиологического состояния почвенных микроорганизмов были выбраны: величина активной биомассы почвенной биоты, микробный метаболический коэффициент и общая ферментативная активность почв. Несмотря на то, что в точке пробоотбора, заложенной в 30 метрах от дороги, суммарное содержание биомассы близко к таковому в точке, находившейся в 1500 метрах, биомасса почвенных микроорганизмов находится в заметно более угнетенном состоянии. Об этом свидетельствуют данные по общей ферментативной активности, полученные методом оценки скорости гидролиза флюоресценин диацетата. Данные по микробному метаболическому коэффициенту, характеризующему «степень нарушенности сообщества», тесно коррелируют с данными по содержанию в почвах тяжелых металлов (свинца и цинка) и нефтепродуктов. Таким образом, под воздействием поллютантов, поступающих от локального источника загрязнения – МКАД, нарушается структура микробных сообществ и почвенный ферментный пул. Следует отметить, что такой показатель, как суммарное содержание биомассы микроорганизмов, меняется в меньшей степени.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009-2013 годы» ГК- П1325.

Изучение видового разнообразия магнитотактических бактерий озера Селигер и реки Пшада

Малева Анна Николаевна¹, Дзюба М.В.²

(¹ ЯрГУ им. П.Г. Демидова, Россия, Ярославль, ² - Центр «Биоинженерия» РАН, Россия, Москва, annmaleeva@yandex.ru)

Магнитотактические бактерии способны ориентироваться по направлению силовых линий магнитного поля Земли или внешнего магнита благодаря наличию в клетках магнетосом – наноразмерных включений магнетита или грейгита, окруженных мембраной. Способность к магнитотаксису встречается среди представителей α -, β -, γ -, δ -*Proteobacteria*, в филуме *Nitrospirae*, а также обнаружена у одноклеточных водорослей. Несмотря на значительные перспективы применения бактериальных магнитных наночастиц в различных областях биотехнологии, на данный момент в чистую культуру выделено лишь несколько видов магнитотактических микробов. Таким образом, поиск и изучение новых магнитотактических бактерий становится все более актуальным. В настоящей работе представлены результаты исследования видового состава магнитобактерий в пробах воды и ила, взятых из оз. Селигер (Тверская область) и в устье реки Пшада (Краснодарский край). Сконцентрированных на магнит бактерий исследовали, используя световую и просвечивающую электронную микроскопию. Проведена предварительная оценка разнообразия клонированных фрагментов генов 16S рРНК, представленных в амплификатах суммарной ДНК изучаемых сообществ. В оз. Селигер наблюдался всего один морфологический тип бактерий, представляющих собой магнитных кокков с необычным расположением магнетосомальных цепочек, которые пересекаются под углом 90°. По результатам BLAST-анализа сходство с *Magnetococcus sp.* MC-1 (CP000471.1) по генам 16S рРНК составило 89%. Наблюдение в световой микроскоп за магнитобактериями р. Пшада выявило несколько различных морфотипов (вibriоны, кокки, спириллы и палочки). Наиболее многочисленными были vibрионы, содержащие одну цепочку крупных магнетосом. Среди проанализированных клонов амплификатов генов 16S рРНК не было выявлено последовательностей, обладающих высоким уровнем сходства с известными магнитотактическими бактериями. Подавляющее большинство клонов относилось к β -*Proteobacteria*. Обилие различных морфотипов, а также результаты анализа амплификатов

генов 16S рРНК позволяют сделать вывод об исключительном разнообразии магнитобактерий р. Пшادا. На данном этапе мы продолжаем работу над выделением в чистые культуры бактерий, выявленных в ходе магнитной сепарации и филогенетического анализа в указанных сообществах.

Работа выполнена в рамках программы Президиума РАН «Нанотехнология». Авторы выражают благодарность научным руководителям: к.б.н. Кузнецову Б.Б. (Центр «Биоинженерия» РАН) и д.б.н. Горленко В.М. (ИНМИ РАН) за помощь в проведении исследований и поддержку, к.т.н. Колгановой Т.В. (Центр «Биоинженерия» РАН) за сиквенс-анализ.

**Поиск и выделение ацидофильных бактерий рода *Acidithiobacillus*,
пригодных для биоокисления упорных золотосодержащих руд Казахстана**
Нагуманова Лилия Аслановна, Парамонова И.Е., Динкаева К.А., Талжанов Н.А.
*(ТОО «Научно – аналитический центр «Биомедпрепарат», Казахстан, Степногорск,
biomedpreparat@bk.ru)*

Одной из важных проблем золотомышьяковой промышленности Казахстана является металлургическая переработка упорных пиритных и арсенопиритных руд, не поддающихся выщелачиванию щелочными цианидами и другими растворителями. Из шахтных вод и руд отработанных карьеров и отвалов рудных месторождений «Аксу», «Бестобе» и «Жолымбет» (Акмолинская область, Республика Казахстан) выделено 7 и идентифицировано 4 изолята 383А, 393В, 385А, 439J культуры *Acidithiobacillus*. Применение выделенных штаммов актуально, так как они являются аборигенными и естественно адаптированными к составу данных руд с повышенным содержанием мышьяка и других примесей.

Выделение и культивирование чистых культур тионовых бактерий проводили в колбах Эрленмейера на питательных средах Сильвермана и Люндгрена 9К и DSM 71 (с $S_2O_3^{2-}$) методом предельных десятикратных разведений. Для оценки чистоты изолятов железо- и сероокисляющих бактерий 383А, 385А, 393В и 439J проводили посев на питательные среды МПБ, МПА, Чапека, сусло-агар. Очистку изолятов 383А и 385А проводили на среде 9К, содержащей 1%-ный раствор медного купороса, а также на среде 9К (без Fe^{2+}), содержащей стерильную руду с высокой концентрацией мышьяка.

По данным нуклеотидных последовательностей 16S рРНК изоляты 383А и 393В подтверждают видовое наименование *Acidithiobacillus ferrooxidans* с 99-100%, изолят 439J – *Acidithiobacillus thiooxidans* с 99-100% и изолят 385А – *Acidithiobacillus ferrivorans* с 98-99% идентичностью в соответствии с данными GenBank NCBI, что согласуется с результатами, полученными при изучении культурально-морфологических признаков изолятов.

Изучено влияние факторов питания, аэрации и продолжительности культивирования на рост и окисление Fe^{2+} в лабораторных условиях для выделенных штаммов. При изучении субстратной специфичности данные кислотообразующие бактерии способны использовать неорганические субстраты Fe^{2+} , S^0/S^{2-} и 0,02% дрожжевой экстракт в качестве источников энергии. В результате проведения селекционных работ повышена окислительная способность штаммов. Активность биоокисления Fe^{2+} составила, г/л (Fe^{3+}): шт. 383А - 6,55; шт. 393В - 5,95; шт. 385А - 4,2; шт. 439J - 7,4 (SO_4^{2-}).

Штаммы 383А, 393В, 385А и 439J культуры *Acidithiobacillus* исследованы на патогенность, токсигенность и передачу на депонирование в РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК.

Исследование является результатом работы по проекту №4.4.1/59-1195, выполняемому в рамках программы фундаментальных исследований Ф.0479 «Закономерности функционирования биологических систем – основа создания инновационных технологий для медицины, сельского хозяйства и охраны окружающей среды». Авторы выражают благодарность к.х.н. Д.С. Балпанову за научное руководство, ценные советы и организацию проведения исследований.

Биосурфактанты *Serratia marcescens*
Никитина Полина Владимировна, Гурьянов И. Д.

(Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань, li1911@mail.ru)

Получение эффективных микробных поверхностно-активных веществ (биосурфактанты, биоПАВ), которые обладают некоторыми преимуществами по сравнению с химически синтезированными ПАВами (биodeградability, промышленное получение на дешевых субстратах, действие при высоких концентрациях солей, рН), является одной из актуальной задачей современной микробиологии. Именно это открывает перспективу их применения для решения различных промышленных задач. Целью работы была оценка способности энтеробактерии *Serratia marcescens* продуцировать биоПАВ и в положительном случае – получение очищенного препарата.

В работе использовали 20 штаммов *S. marcescens* из разных коллекций, полученных в разное время. Поверхностное натяжение культуральной жидкости измеряли методом отрыва кольца.

Способность синтезировать биоПАВ обнаружена у всех исследованных штаммов. По величине изменения поверхностного натяжения воды штаммы условно разделены на три группы. В ходе скрининга для дальнейших исследований был отобран один штамм (аpigментный), при культивировании которого в жидкой питательной среде наблюдалось максимальное снижение поверхностного натяжения воды. Не обнаружена корреляция между синтезом пигмента и биосурфактанта. Митомицин С (соединение, блокирующее репликацию ДНК) незначительно подавлял биосинтез ПАВ. Для определения критической концентрации мицеллообразования был построен график изотермы поверхностного натяжения для активного штамма. По значению критической концентрации мицеллообразования активность биосурфактанта, синтезируемого штаммом *Serratia marcescens*, была ниже, чем активность синтетического ПАВ Tween 80, который был взят в качестве стандарта. Высокоочищенный препарат биосурфактанта получен с использованием метода тонкослойной хроматографии.

Таким образом, в результате проделанной работы отобран высоко продуктивный штамм-продуцент биосурфактанта. Изучены некоторые особенности его синтеза, получен очищенный препарат биосурфактанта. Все проделанное является необходимым для дальнейшей разработки методов практического использования препарата.

Изучение биоразнообразия цианобактерий из группы прохлорофитов в водных экосистемах Северо-Западного региона с помощью методов молекулярно-генетической детекции

Попова Дарья Александровна

(Санкт-Петербургский Государственный Университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Санкт-Петербург, popovadarina@mail.ru)

Прохлорофиты представляют собой особую пигментную группу цианобактерий, поскольку в составе основного светособирающего комплекса (ССК) они не имеют фикобилипротеинов, а содержат вспомогательные хлорофиллы. По сравнению с другими цианобактериями биологическое разнообразие прохлорофитов изучено недостаточно. Основная причина состоит в том, что цианобактерии и прохлорофиты не отличаются морфологически и занимают в природе сходные экологические ниши. Однако, характерные особенности организации компонентов фотосинтетического аппарата прохлорофитов позволяют их обнаружить с помощью методов молекулярно-генетической детекции.

Из водоемов Северо-Западного региона РФ в весенне-летний период 2010 г. были отобраны 37 проб, клеточный материал которых использовали для выделения «природной» тотальной ДНК. Затем был проведен молекулярно-генетический скрининг образцов ДНК с помощью метода ПЦР со специфичными праймерами. В частности, нами были отобраны праймеры к генам *pcbC* и *petE* трихомного представителя прохлорофитов *Prochlorothrix hollandica*, а также к генам *psbA* и *rpoC* одноклеточного *Prochlorococcus* sp. В дополнение были использованы видоспецифичные праймеры к гену 16S рДНК *P. hollandica* PCC 9006.

Проведенный нами молекулярно-генетический анализ выявил в семи водных пробах присутствие фрагментов ДНК сходных с ДНК трихомных прохлорофитов *P. hollandica*.

Таким образом, для выявления природного разнообразия прохлорофитов требуется применение комплексного подхода, который включает не только микроскопические, но и молекулярно-генетические методы исследования.

Детекция *B. subtilis* на основе моноклональных антител

Сарина Нургуль Исаковна

(РГП «Национальный центр биотехнологии Республики Казахстан» КН МОН РК,
Казахстан, Астана, nurgul-sarina@rambler.ru)

Основными критериями оценки эффективности любой иммунологической реакции является изучение их чувствительности и специфичности по отношению к искомому антигену. Целью исследования являлось разработка сэндвич варианта точечного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием моноклональных антител (МКА), специфичных к белковым антигенам *B. subtilis*, один из которых конъюгирован с ферментом.

Для исследования были использованы образцы растворимых и корпускулярных антигенов *B. subtilis* и других родственных микроорганизмов в двукратных разведениях с убывающей концентрацией.

Результаты исследования показали, что в сэндвич варианте точечного ИФА с использованием специфичных МКА предел детекции растворимых белковых антигенов *B. subtilis* 42 и *B. subtilis* 8 составил 0,005-0,002 мкг/мл. Минимальное количество выявляемых интактных клеток *B. subtilis* 8, *B. subtilis* 26, *B. subtilis* 43 и *B. subtilis* ATCC 6633 составила $1 \times 10^4 - 5 \times 10^3$ м.к./мл.

Очень важно отметить специфичность сэндвич варианта точечного ИФА в отношении *B. cereus* – наиболее близкородственного микроорганизма. Установлено, что испытуемый вариант ИФА детектировал *B. cereus* только при содержании 5×10^8 м.к./мл. Остальные перекрестно реагирующие сапрофитные бактерии в виде цельных клеток *B. firmus* S-20, *B. termophilus* TP 1/1 DG-9, *B. licheniformis* 356, *B. species* 13/7, *B. polymyxa* 1459, *B. acidodurans* БТ 90, *B. thuringiensis* subsp. *terrebrionis*, *B. anthracis* СТИ-1, *Escherichia coli*, *Salmonella dublin* определено в иммуноферментном анализе не выявлялись.

Результаты проведенных исследований дают основания предположить, что ИФА с использованием МКА обладает достаточной чувствительностью и специфичностью в отношении *B. subtilis*.

Пути метаболизма глифосата почвенными бактериями *Ochrobactrum anthropi* GPK3 и *Achromobacter* sp. MPS12A

Свиридов Алексей Владимирович, Леонтьевский А.А.

(Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и физиологии
микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Россия, Пуцино, alhummen@rambler.ru)

В настоящее время остро встала проблема загрязнения почв глифосатом (ГФ) — действующим компонентом распространенных гербицидов, обладающим токсикогенным и тератогенным потенциалом. ГФ устойчив к воздействию факторов среды, но расщепляется рядом микроорганизмов, что делает актуальной разработку технологий микробной ремедиации почв и стоков, загрязненных ГФ. Эта задача осложняется недостаточной изученностью путей минерализации ГФ и ферментов, эти пути образующих.

Основной целью работы было выявить и картировать пути метаболизма глифосата у двух штаммов почвенных бактерий с высокими показателями эффективности деструкции ГФ: *Ochrobactrum anthropi* GPK3 (VKM 2554 D) был выделен из почв, загрязненных ГФ, а *Achromobacter* sp. MPS12A — из почв, загрязненных метилфосфоновой кислотой (МФК), и адаптирован к утилизации ГФ.

Разработанный нами метод жидкостной хроматографии amino- и фосфоновых кислот позволил установить, что расщепление ГФ штаммом GPK3 осуществлялось преимущественно ферментом глифосат-оксидоредуктазой с образованием аминометилфосфоновой кислоты (АМФК) и глиоксилата. АМФК затем подвергалась

трансаминированию до фосфоформальдегида, связь углерод-фосфор (С-Р) у которого атаквалась ферментом фосфоацетальдегидгидролазой (фосфоназой). Метаболизм ГФ штаммом MPS12A, напротив, шел с участием фермента С-Р лиаза, непосредственно расщеплявшего С-Р связь с образованием Р₁ и саркозина, превращавшегося затем в глицин под действием саркозиноксидазы.

Способность изученных штаммов полностью минерализовать ГФ без накопления в клеточной среде устойчивых интермедиатов позволяет использовать *O. anthropi* GPK3 и *Achromobacter sp.* MPS12A как основу для разработки новых технологий ремедиации почв, загрязненных глифосатом. Кроме того, картирование путей метаболизма ГФ дало возможность лучше понять механизмы адаптации бактерий к утилизации фосфонатов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 09-04-00320.

Роль фактора транскрипции CodY в регуляции экспрессии гена металлопротеиназы *Bacillus intermedium* Сибгатуллина Эльвира Эмильевна

(Казанский Приволжский Федеральный Университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Казань, elvira0510@rambler.ru)

Одним из глобальных белков, участвующих в регуляции метаболизма и адаптации бактерий к неблагоприятным условиям, является фактор транскрипции CodY. Этот белок в клетках *B. subtilis* регулирует экспрессию около ста генов, которые вовлечены в ответ на голодание. CodY – это ГТФ-связывающий белок, который чувствителен к внутриклеточной концентрации ГТФ и регулирует транскрипцию генов в постэкспоненциальный период роста бактерий, позволяя клеткам адаптироваться к недостатку питательных средств.

Металлопротеиназы секретируются многими бактериями, хотя физиологическая роль многих из них до сих пор остается невыясненной. Представляло интерес изучить влияние различных регуляторных систем на экспрессию генов металлопротеиназ у бактерий. Работа посвящена установлению роли фактора транскрипции CodY на экспрессию гена внеклеточной металлоэндопептидазы *mprBi* в рекомбинантном штамме.

В промоторе гена металлопротеиназы *mprBi* идентифицированы потенциальные сайты регуляции для взаимодействия с белком CodY и сайты их расположения. Гомология узнаваемых CodY последовательностей составила 86% относительно консенсусной последовательности AATTTTCWGAAAATT. Эти результаты позволяют предположить участие регуляторного белка CodY в регуляции экспрессии гена металлопротеиназы на уровне транскрипции. Было показано, что максимум активности фермента в культуральной жидкости штамма *B. subtilis* ($\Delta codY$, *pSA1*), дефектного по регуляторному белку CodY, наблюдается на 24-30-й час, что соответствует стационарной фазе роста культуры, однако уровень экспрессии гена металлопротеиназы оказался ниже в 1,5 раза относительно контроля *B. subtilis* (*pSA1*) в фазе вегетативного роста. Полученные данные позволили предположить участие регуляторного белка CodY в контроле экспрессии гена фермента металлопротеиназы в период вегетативного роста.

Действие Fe(II) и Fe(III) на биолюминесцентную активность рекомбинантного штамма *Escherichia coli* в остром опыте

Сорокина Елена Владимировна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, sorokina_ev77@mail.ru)

Для токсикологических и аналитических исследований используется метод биотестирования с помощью морских люминесцентных микроорганизмов. Эти биотесты отличаются большой пропускной способностью, дают количественную меру токсичности, чувствительны, просты, позволяют контролировать одновременно значительное число соединений. Для упрощения получения результатов были использованы рекомбинантные штаммы *E. coli* со встроенными генами люминесцентной системы из морских бактерий.

Проведение эксперимента заключалось в добавлении к суспензии клеток *E. coli* разных концентраций железа в диапазоне от 0,2 до 20 мг/л и изучение динамики ингибирования

интенсивности свечения. Токсическое действие исследуемых веществ Fe(II) и Fe(III) определялось по снижению свечения тест-культуры за 30-минутный период экспозиции. По полученным результатам на люминометре Luminometer 1251 рассчитывали индекс токсичности опытных образцов.

Количественная оценка параметра выражается в виде величины - индекса токсичности: $T = 100(I_0 - I) / I_0$, где I_0 и I - интенсивность свечения контроля и опыта при фиксированном времени экспозиции. Для определения индекса токсичности проводили параллельное измерение контрольных (не содержащих токсических веществ) и опытных проб в трех повторностях. Методом экстраполяции были найдены величины EC_{20} и EC_{50} для Fe(II) и Fe(III), то есть те эффективные концентрации, при которых начинается достоверное влияние на бактериальную клетку, при этом токсичность составляет (20%) и концентрация, при которой уже имеет место острая токсичность (50% ингибирования свечения). EC_{20} и EC_{50} для Fe(II) составляет 2 мг/л и 10 мг/л соответственно. Для Fe(III) $EC_{20} = 0,2$ мг/л и $EC_{50} = 1$ мг/л. По результатам исследования видно, что железо влияет на свечение бактерий, снижая его в остром опыте, клетки *E. coli* более чувствительны к Fe(III), чем к Fe(II).

Следовательно, с помощью данного биотеста можно проводить скрининг токсичности веществ и давать рекомендации по предельно допустимой концентрации соединений, при которой не будет наблюдаться этот токсический эффект.

Морфологические изменения мицелия грибов *Phytophthora* и *Fusarium* под действием дельта-эндотоксинов *Bacillus thuringiensis* Терпиловский Максим Александрович, Каменек Д. В.

(Ульяновский государственный университет, Экологический факультет, Россия, Ульяновск, maxim@terpilovsky.ru)

Подвиды почвенной бактерии *Bacillus thuringiensis* продуцируют белковые дельта-эндотоксины, представляющие собой параспоральные кристаллы, способные оказывать антимикробное действие. Показано, что белковые токсины оказывают ингибирующее влияние на фитопатогенные грибы родов *Bipolaris*, *Alternaria*, *Risocetonia*, вызывающих многочисленные инфекционные заболевания растений. Использование этих метаболитов для борьбы с фитопатогенными грибами родов *Phytophthora* и *Fusarium* очень перспективно, однако, особенности действия токсинов малоизучены.

Для изучения действия дельта-эндотоксинов *B. thuringiensis* на морфологические особенности мицелия грибов *Phytophthora infestans* и *Fusarium oxysporum* последние инкубировали с токсином в течение 30 минут, 60 минут и 6 часов. Клетки инкубировали при 17°C (*P. infestans*) и 28°C (*F. oxysporum*) с препаратами токсина различной концентрации — 200 и 400 мкг/мл. Обработанный и подготовленный материал исследовали методами световой микроскопии.

Под действием дельта-эндотоксина *B. thuringiensis* в клетках грибов происходили патологические изменения. Отмечались значительное выделение секретируемых пузырьков, выраженная вакуолизация, изменение структуры цитоплазмы и гибель клеток. В контроле, где клетки инкубировались в отсутствие дельта-эндотоксина, каких-либо изменений в структуре клеток обнаружено не было.

Известно, что постоянные концентрации ионов и неэлектролитов в клетке поддерживают особые мембранные транспортные системы, важнейшим звеном которых являются АТФазы. Нарушения в работе этих систем влекут за собой вакуолизацию и лизис клеток. Существуют данные о том, что эндотоксины стимулируют активность Na^+ , K^+ -АТФазы клеток. Степень активирования зависит от концентрации вводимого токсина. Следствием деэнергизации является связанная с нарушением ионного транспорта и притоком в клетку воды вакуолизация, приводящая в конечном итоге к разрушению клетки.

Таким образом, в результате проведенных исследований удалось установить характер морфологических изменений, вызываемых дельта-эндотоксинами *B. thuringiensis* в клетках грибов *P. infestans* и *F. oxysporum*.

Работа проведена в рамках реализации ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.

Бактерии *Paenibacillus ehimensis* – источник циклодекстрин-гликоанотрансфераз

Федорова Полина Юрьевна

(Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Россия, Уфа,
millinariya@yandex.ru)

Циклодекстрины (ЦД) представляют собой макроциклические олигосахариды, получаемые ферментативным путем из крахмала. Источниками ферментов (циклодекстрин-гликоанотрансфераз, ЦГТаз, К.Ф. 2.4.1.19), катализирующих образование ЦД, являются исключительно прокариоты, при этом системный поиск и выделение новых штаммов продуцентов является серьезной проблемой.

Впервые нами обнаружена способность продукции ЦД бактериями *Paenibacillus ehimensis* в группе из трех культур, включая типовую DSM 11029¹, депонированную в немецкой коллекции микроорганизмов, а также двух собственных изолятов: IB-739 и IB-G2P. Для получения активной культуральной жидкости бактерии культивировали при 37°C в 250-мл качалочных колбах в течение 68-72 ч на питательной среде следующего состава, г/л: крахмал – 10,0; пептон – 4,0; дрожжевой экстракт – 5,0; K₂HPO₄ – 1,0; NaH₂PO₄ – 1,0 (рН=7,2). Биомассу отделяли центрифугированием, фильтрат КЖ концентрировали методом ультрафильтрации на полых волокнах ВПУ-50. ЦГТазную активность определяли модифицированным фенолфталеиновым методом. Аналитическое определение специфичности ЦГТаз осуществляли, используя в качестве субстрата 5%-ный картофельный крахмал в 50 мМ ацетате натрия. Реакцию осуществляли в течение 24 часов при рН=6,0±0,05 и 50°C. Количественное определение ЦД выполняли методом ВЭЖХ.

Все три культуры *P. ehimensis*, использованные в экспериментах, продемонстрировали хорошо детектируемый уровень внеклеточной ЦГТазной активности (2-3 ед./мл) в КЖ. Было показано, что оптимальный температурный режим циклизации наблюдается при рН=6,0 и 50°C, при этом добавление катионов двухвалентного кальция (5-15 мМ) стабилизирует фермент. Характерной особенностью ЦГТаз изученной выборки штаммов *P. ehimensis* являлся необычный характер специфичности, не наблюдаемый с циклизующими ферментами бактерий других видов. Во всех случаях результатом увеличения удельной дозировки фермента по отношению к субстрату являлось смещение равновесия реакции в сторону образования гамма-ЦД. Обнаружение способности к образованию специфической ЦГТазы бактериями *P. ehimensis* открывает возможности для повышения эффективности существующих технологий продукции ЦД.

Разложение целлюлозы с получением водорода и последующее его выделение с применением мембранных технологий

Федосова Виктория Ильинична

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва,
Extraordinalka@gmail.com)

На сегодняшний день весьма актуальными являются исследования, связанные с поиском новых способов получения альтернативного топлива и утилизации отходов. Данная работа посвящена изучению процесса разложения целлюлозы термофильными анаэробными микроорганизмами, одним из доминирующих продуктов которого является биоводород. Нами были получены 18 накопительных культур, выделенных из прибрежной заболоченной области и ила пресного водоема, а также из зоны компостирования пищевых отходов. Периодическое культивирование изучаемых сообществ проводилось в течение более полугода. В результате были отобраны 6 накопительных культур с максимальной степенью разложения целлюлозы (до 99% за 10 дней) и высоким выходом водорода (до 63 мМ). Однако при этом происходило ингибирование процесса накопленным водородом. Решение данной проблемы мы видим в применении системы непрерывного удаления водорода из культуральной жидкости на основе поливинилтриметилсилановых мембран (ПВТМС). ПВТМС-мембраны обладают устойчивостью к обрастанию микроорганизмами, а также отличаются селективными свойствами в отношении водорода. Таким образом, решается проблема ингибирования процесса накопленным водородом и облегчается дальнейший процесс его очистки от смеси газов, поступающей из реактора. Полученная в результате

переработки целлюлозосодержащих отходов энергия в виде водорода может быть в дальнейшем использована для целей глобальной и локальной энергетике.

Исследования проводятся при финансовой поддержке федеральной целевой программы Министерства образования и науки Российской Федерации «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы в рамках реализации проекта «Проведение поисковых научно-исследовательских работ по направлению «Производство топлива и энергии из органического сырья», ГК №П1558.

Обнаружение S-слоя *Lactobacillus plantarum* методами микроскопии высокого разрешения

Хузахметова Венера Равилевна

*(Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань,
Venus154@mail.ru)*

Колонизация эпителиальных клеток кишечника пробиотическими молочнокислыми бактериями в значительной степени определяется адгезивными свойствами последних. Данные свойства зависят от присутствия на поверхности микроорганизмов специальной поверхностной структуры – S-слоя. Он обнаруживается как у грамположительных, так и у грамотрицательных бактерий, имеет кристаллическое строение и состоит из однотипных протениновых или гликопротеиновых субъединиц. В геноме *Lactobacillus plantarum* не удалось обнаружить гены, кодирующие S-белки. Компьютерный скрининг генных детерминант S-белков у лактобацилл сильно затруднен из-за отсутствия у них консервативной области, на основании которой обычно обнаруживают S-белки методами биоинформатики. Для исследования S-слоев лактобацилл широко применяются методы высокоразрешающей микроскопии.

Целью работы является анализ тонкой структуры поверхности клеток *L. plantarum* 8P-A3 методами электронной и атомно-силовой микроскопии (АСМ).

Анализ ультратонких срезов клеток *L. plantarum* 8P-A3, фиксированных в присутствии рутениевого красного, продемонстрировал наличие «косой» p2 симметрии в структуре клеточной поверхности. Методом АСМ обнаружили симметричную продольную и поперечную исчерченность. Указанные структуры характерны для формирования S-слоя бактерий. Таким образом, с помощью методов атомно-силовой и электронной микроскопии у *L. plantarum* 8P-A3 были впервые обнаружены структуры, морфологически сходные с бактериальным S-слоем.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №09-04-97032), ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» П1275 от 09.06.2010 и ГК 02.740.11.0391. Автор выражает благодарность В.И. Дуда (лаборатория структурно-функциональной адаптации микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов РАН им. Г.К. Скрабина, г. Пушино) за помощь в проведении электронной микроскопии и О.А. Коноваловой (Институт физики Казанского (Приволжского) федерального университета) за постановку экспериментов по АСМ, а также научным руководителям Д.Р. Яруллиной и О.Н. Ильинской.

Эффективность действия *Propionibacterium freudenreichii* и некоторых органических кислот на грибы

Шамрайчук Ирина Леонидовна

(МГУ, Россия, Москва, irashamr@yandex.ru)

Установлено, что 5-10 % мировой пищевой продукции подвержено порче грибами. Кроме экономических потерь, многие виды мицелиальных грибов приводят к заболеваниям людей вследствие образования микотоксинов. В последнее время внимание привлекают методы биопротекции, основанные на антимикробных свойствах микроорганизмов и их факторов; такими свойствами обладает и культура *Propionibacterium freudenreichii* и ее экзометаболит – пропионовая кислота.

В нашей работе мы определяли действие культуры *P. freudenreichii* В-9654, пропионовой, а также (для сравнения) уксусной и молочной кислот на грибы при разных

значениях pH. Были определены минимальные действующие концентрации кислот (МДК, mM), полностью подавляющие рост *Aspergillus fumigatus* 102, *Aspergillus ochraceus* 121, *Penicillium chrysogenum*, *Debaryomyces hansenii* и *Geotrichum candidum* на жидкой среде Чапека. МДК культуры *P. freudenreichii* В-9654 были оценены в объемных процентах.

Значения МДК культуры *P. freudenreichii* В-9654 при pH 3,0 составили 5-30 об. %; при pH 4,0 они расположились в интервале от 20 до более 50 об. %; при pH 5,0 – от 10 до более 50 об. %. Из всех исследованных солей кислот пропионат наиболее эффективно подавлял рост грибов, а лактат – наименее эффективно. При pH 3,0 значения МДК пропионата находились в диапазоне от 5 до 21 mM, ацетата – от 20 до 100 mM, лактата – от 125 до более чем 500 mM. При pH 4,0 значения МДК пропионата расположились в диапазоне от 10 до 31 mM, ацетата – от 40 до 150 mM, лактата – от 75 до более чем 500 mM. При pH 5,0 значения МДК пропионата находились в интервале от 21 до 73 mM, ацетата – от 60 до 350 mM, для лактата они были более 500 mM. Наиболее устойчивым видом грибов оказался *G. candidum*.

Результаты показали, что чувствительность грибов является видоспецифичной. Решающая роль в подавлении принадлежит значению pH, которое определяет количество более активной недиссоциированной пропионовой кислоты в среде. Поэтому при повышении pH для всех исследованных видов грибов были характерны более высокие значения МДК кислот и культуры *P. freudenreichii* В-9654.

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

Разработка пробиотиков для коррекции микрофлоры влагалища

Абитаева Гуляим Каиркеновна

(РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов», Казахстан, Астана,
gulyaim_as@mail.ru)

Нарушение микрофлоры влагалища, как правило, сопровождается резким снижением количества лактобактерий и бурным развитием облигатно-анаэробной флоры. Сегодня доказана эффективность биологических препаратов, разработанных на основе лактобактерий, для восстановления вагинальной микрофлоры. Целью данного исследования является разработка пробиотических вагинальных свечей, состоящих из желатиново-глицериновой основы и культур лактобактерий *L. salivarius* и *L. fermentum*.

Изучена антагонистическая активность полученного пробиотического комплекса. Оценка специфической активности проводилась микробиологическими и морфологическими методами на модели бактериального вагиноза.

Из девяти вариантов пробиотического комплекса был отобран вариант с соотношением компонентов – желатин 18%, глицерин 40%, вода 42%, содержащий $2,4 \times 10^8$ КОЕ/мл живых лактобактерий. Комплекс обладает высокой антагонистической активностью к клиническим штаммам *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella ozaenae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

Десятидневное местное использование пробиотического комплекса на экспериментальных крысах с дисбиозом влагалища показало отсутствие роста дрожжеподобных грибов *Candida spp.*, хотя до лечения их количество достигало 1,2 lg КОЕ /мл; количество эшерихий с низкой ферментативной активностью снизилось с 2,1 до 0,5 lg КОЕ/мл, стафилококков с 2,9 до 1,8 lg КОЕ/мл; выявлено повышение количества лактобактерий. Также наблюдалось выраженное улучшение морфологической картины слизистой оболочки влагалища, уменьшение воспалительной инфильтрации тканей. Учитывая количественные и качественные показатели полученных результатов и их сравнительные характеристики, мы наблюдали восстановление нормоценоза у животных, получавших пробиотический комплекс. У животных, не подвергавшихся лечению, и получавших желатиново-глицериновую основу без лактобактерий, к концу эксперимента выявлялся дисбиоз влагалища. Отмечено стабильное на протяжении всего периода наблюдения ухудшение морфологической картины влагалища, что характеризовалось выраженными патологическими изменениями с резкими дисрегенеративными и

метапластическими изменениями покровного эпителия, воспалением, отеком и очагами кровоизлияний в собственном слое слизистой оболочки.

Итак, полученный пробиотический комплекс перспективен в качестве нового лечебно-профилактического средства для восстановления нарушений нормальной микрофлоры женщин.

Влияние магнитного и немагнитных изотопов магния на жизнедеятельность клеток *Escherichia coli*

Авдеева Елена Ивановна, Шевченко У. Г., Ройба Е. А.

(Оренбургский Государственный Университет, Россия, Оренбург, lena06bf@mail.ru)

Магний – биологически важный химический элемент; он является кофактором нескольких сотен ферментов. Среди трех стабильных изотопов ²⁴, ²⁵, ²⁶Mg, существующих в природе, лишь ядро ²⁵Mg обладает спином I = 5/2 и магнитным моментом. Биологический магнитный эффект изотопа ²⁵Mg был обнаружен в реакции синтеза АТФ, катализируемых различными фосфорилирующими ферментами, и он оказывал влияние на кинетику роста прокариотических клеток – бактерий *Escherichia coli*. Возможно, что биологическая магниторецепция связана именно со способностью магнитных полей и магнитных изотопов влиять на скорость ферментативных реакций, идущих в живых организмах, и, соответственно, на их рост и развитие.

Цель данной работы – исследовать влияние магнитных и немагнитных изотопов магния на различные стадии жизнедеятельности клеток *E. coli*. Бактерии культивировались в жидких питательных средах, содержащих исключительно чистые изотопные формы магния (²⁴MgSO₄, ²⁵MgSO₄ и ²⁶MgSO₄). Получены экспериментальные данные, отражающие различия в действии магнитного и немагнитных изотопов магния на колониеобразующую способность, определяемую по количеству КОЕ, а также на элементный и магний-изотопный состав клеток *E. coli* (масс-спектрометрические методы). Были предложены возможные механизмы влияния магнитного изотопа магния на бактерии *E. coli*.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 10-04-96083 и Министерства образования и науки № П207, № 02.740.11.0703.

Биотехнологический потенциал бактерий рода *Zyotomonas*

Алескерова Лейла Эльшадовна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, leyila.07_86@mail.ru)

Одним из перспективных альтернативных источников энергии является топливный этанол. Его получают химическим путем из этилена при высокой температуре в присутствии катализаторов, а также с помощью многих микроорганизмов. Одним из главных продуцентов биоэтанола до сих пор остаются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Ведутся также исследования по получению топливного спирта с использованием бактерий. Представители рода *Zyotomonas* являются одними из основных объектов исследования среди бактерий. Однако изучение разных штаммов *Zyotomonas* привело исследователей к неоднозначным результатам. Целью работы было изучение биотехнологических свойств бактерий *Zyotomonas mobilis* DSM 424^T и DSM 3580.

Подобраны питательные среды, определены оптимальные значения pH и температуры для роста штаммов DSM 424^T и DSM 3580, а также форма, размеры и подвижность их клеток. Установлена скорость роста этих штаммов и синтеза ими этанола на средах с глюкозой, сахарозой и фруктозой. Определен спектр продуктов сбраживания глюкозы клетками DSM 424^T и их устойчивость к разным концентрациям этанола в питательной среде. Осуществлена иммобилизация клеток *Z. mobilis* DSM 424^T в Са-альгинат. Определены концентрации глюкозы, которые клетки DSM 424^T способны сбраживать в свободном и иммобилизованном состоянии в периодическом режиме ферментации.

Иммобилизованные клетки DSM 424^T использованы для получения этанола в периодических условиях в специальных флаконах и в непрерывных условиях с использованием специально сконструированного ферментера колоночного типа с

взвешенным слоем гранул носителя с иммобилизованными в них бактериями. Показана возможность непрерывного получения биоэтанола с использованием иммобилизованных клеток с высокой продуктивностью. Применение иммобилизованных клеток *Z. mobilis* DSM 424^T позволяет повысить их продуктивность по сравнению со свободными клетками. Дается сравнительный анализ эффективности применения бактерий рода *Zyotomonas* и дрожжей рода *Saccharomyces* для получения биоэтанола в промышленных масштабах.

Участие экзогенных ацилгомосеринлактонов в ответе стафилококка на стресс
Белоногова Надежда Викторовна, Кудрявцева Д.Н., Митько В.Е.

(Казанский (Приволжский) федеральный университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Казань, Anna.Margulis@ksu.ru)

Ацилированные лактоны гомосерина (АГЛ) проявляют свое действие на биологических и экологических уровнях организации. Несмотря на тот факт, что производят АГЛ немногие роды прокариот, представители этих родов широко распространены в окружающей среде и представляют большой интерес для человека. АГЛ осуществляют как межклеточную коммуникацию внутри одного вида бактерий, так и межвидовую коммуникацию, а также взаимодействие между бактериями и высшими организмами. Целью настоящей работы явилось выяснение механизмов устойчивости *Staphylococcus aureus* к стрессу при действии ацилированного гомосеринлактона. В ходе работы решались следующие экспериментальные задачи: 1. Охарактеризовать ответ *Staphylococcus aureus* на действие теплового шока (ТШ) при 45°C и 60°C в течение 15 минут. 2. Оценить воздействие предобработки культуры *S. aureus* гомосеринлактоном (ГСЛ) на динамику роста и способность к колониеобразованию после действия теплового шока. 3. Продемонстрировать эффекты гомосеринлактона на активность ферментов стафилококка в условиях стресса. В ходе эксперимента было показано, что тепловой шок при 60°C (15 минут) приводит к частичному разрушению клеток стафилококка. ТШ при 45°C с предварительной обработкой ГСЛ вызывает более раннее наступление стационарной фазы роста культуры, что, вероятно, связано с накоплением токсичных метаболитов. Двухчасовая предобработка стафилококка гомосеринлактоном перед ТШ не влияет на лецитиназную активность, но приводит к повышению устойчивости протеаз к тепловому шоку при 60°C и к повышению чувствительности гемолизина к действию ТШ, за счет чего ингибируется гемолитическая активность.

Таким образом, ацилированный ГСЛ демонстрирует комплексное и неоднозначное воздействие на физиолого-биохимические характеристики *Staphylococcus aureus*. Понимание биологической активности АГЛ и экологических последствий такой деятельности может дать нам возможность манипулировать составом и функциями сложных биологических комплексов. В конечном итоге, это расширяет биотехнологическую значимость исследований АГЛ для ослабления вирулентности патогенов человека, животных и растений.

Оптимизация применения «ассоциативных» бактериальных удобрений в выращивании огурцов

Блинков Евгений Александрович

(Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Россия, Москва, ecobio@list.ru)

Открытие явления ассоциативной азотфиксации обосновало целесообразность искусственного обогащения ризосферы небобовых растений отобранными штаммами бактерий, способных к комплексному положительному воздействию на растения, в том числе к активному связыванию молекулярного азота. Последнее особенно важно для овощных культур, нуждающихся в больших дозах азота в доступной форме. По результатам опытов в защищенном грунте некоторые ассоциативные азотфиксаторы способны более чем на 50% заменить минеральный азот, вносимый под овощные культуры, а также снизить потребность в фосфорных и калийных удобрениях, в фунгицидах.

Нерегулярная воспроизводимость результатов инокуляции, не позволяющая достаточно надежно прогнозировать реакцию растений, является в настоящее время главной причиной

ограниченного применения «ассоциативных» бактериальных удобрений в сельскохозяйственной практике.

Нами изучалось влияние дефицита влаги в почве (45-50% ПВ) и низких положительных температур (+16°C день, +12°C ночь) на азотфиксирующие микроорганизмы ризопланы и филлосферы растений, а также влияние интродуцируемых микроорганизмов на растения огурца в условиях водного и температурного стресса. Огурцы сорта «Конкурент» и гибрида «Рассвет» инокулировались биопрепаратами «Биоплант-К» (создан лабораторией микробиологии РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева на основе эндофитной ризобактерии *Klebsiella planticola* штамм ТСХА-91) и «Мизорин» (разработан ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии на основе ризобактерии *Arthrobacter mysorens*).

Интродуцируемые в эндосферу корней огурца бактерии вступают в ассоциативный симбиоз с растениями, снижая негативное воздействие стрессовых факторов на них. Особенно это отмечается на ранних стадиях роста. Инокуляция растений штаммами *Klebsiella planticola* и *Arthrobacter mysorens* в целом способствует увеличению численности ассоциативных диазотрофов как в ризоплане и эндосфере корней огурца, так и в его филлосфере.

Исходя из полученных данных, рекомендуется применять штаммы *Klebsiella planticola* ТСХА-91 и *Arthrobacter mysorens* при выращивании, прежде всего, рассады огурца, как при оптимальной, так и при дефицитной влажности почвы и (или) пониженных температурах. Инокуляция растений изучаемыми диазотрофными бактериями привела к увеличению урожайности огурца по сравнению с контролем. В условиях недостатка влаги перспективной является инокуляция растений штаммом *Arthrobacter mysorens* (биопрепарат «Мизорин»), а в условиях низких положительных температур – штаммом *Klebsiella planticola* ТСХА-91 (биопрепарат «Биоплант-К»).

Активный ил и осадки промышленных сточных вод как источник бактерий, стимулирующих рост растений

Гаязова Диана Сергеевна

(Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Казань, dianagajazova@rambler.ru)

Обнаруженные ранее жизнеспособные микроорганизмы в толще концентрированных отходов нефтехимии (нефтешламов), а также микроорганизмы, участвующие в очистке промышленных сточных вод, широко известные как «активный ил», представляют собой наиболее выраженный пример адаптации к неблагоприятным условиям. Уникальные метаболические возможности микрофлоры, выживающей в агрессивной среде, могут являться факторами, способствующими повышению устойчивости и других организмов, в частности растений. Учитывая высокий потенциал растительно-микробных ассоциаций при фиторемедиации загрязненных объектов, антропогенные экониши представляли для нас особый интерес как источники адаптированной микрофлоры, обладающей потенциалом в отношении стимуляции роста растений.

Изоляты исследовали с точки зрения способности к синтезу индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) и растворению фосфатов кальция, а также наличием противопатогенных свойств.

Все изоляты, выделенные из шлама, и 90% изолятов активного ила, оказались способными к синтезу ИУК. Среднюю и высокую активность (на уровне 14-50 мкг/мл) проявили 50% изолятов, выделенных из шлама, и около 20% изолятов, выделенных из активного ила. Способность растворять труднодоступные соединения фосфора выявили только среди шламовых изолятов (до 60% представителей). Что касается противопатогенных свойств, то была выявлена антагонистическая активность в отношении фитопатогенных грибов из родов *Alternaria sp.* и *Fusarium sp.* у 90 и 16% представителей сообщества шлама и активного ила, соответственно. Изоляты активного ила проявляли, в основном, узкоспецифичный антагонизм по отношению к *Fusarium sp.*, тогда как шламовые изоляты продемонстрировали широкий спектр противопатогенной активности.

Исходя из результатов всех опытов можно заключить, что микрофлора, циркулирующая в системе очистки промышленных сточных вод и длительное время сохраняющаяся в осадках (шламе) обладает набором ценных свойств, определяющих механизмы стимуляции роста растений. При этом процент биотехнологически перспективных штаммов в шламе выше, чем в активном иле.

Эффективность методов выделения ДНК из культур ацидофильных хемолитотрофных микроорганизмов, выделенных из сульфидной руды медно-никелевого месторождения Шануч (Западная Камчатка)

Дронин Александр Владимирович, Рогатых С.В.

(Камчатский государственный университет имени Витуса Беринга, Научно-исследовательский геотехнологический центр Дальневосточного отделения РАН, Россия, Петропавловск-Камчатский, nigtc@kscnet.ru)

Цель работы состоит в сравнении методик выделения ДНК из клеток микроорганизмов (*Acidithiobacillus thiooxidans*, *A. ferrooxidans*, *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* и *Ferroplasma acidiphilum*), которые участвуют в экспериментальных процессах бактериально-химического выщелачивания ценных компонентов из сульфидной руды месторождения Шануч. Полученные препараты ДНК не должны содержать примесей веществ, влияющих на эффективность и надежность анализа, и получаемая смесь нуклеиновых кислот должна сохранять количественное соотношение копий геномов каждого вида, входящего в состав пробы.

Были протестированы методы очистки ДНК, использующие различные комбинации механических (нагревание до 60-98°C, перетирание с частицами SiO₂), ферментативных (обработка лизоцимом и протеиназой К) и химических (обработка GuSCN, СТАВ и КОН) воздействий на клетки. В сравнении принимали участие пробы, содержащие прикрепленные к частицам грунта микроорганизмы, и содержащие преимущественно свободные клетки. Оценку эффективности проводили с помощью real-time ПЦР; использовали пары универсальных праймеров, позволяющих амплифицировать суммарную ДНК в пробе.

Наилучший результат получен для методики, основанной на лизирующей активности GuSCN. Сходный результат был получен для ферментативной методики, но на результат количественной ПЦР оказали влияние остатки бактериальных нуклеиновых кислот, содержащиеся в реагентах. Показана низкая эффективность методик, основанных на лизирующей активности СТАВ и на физическом воздействии на клетки с помощью частиц SiO₂. Для методики, основанной на лизирующей активности КОН, получен средний результат, однако ее недостатком является низкая степень очистки препарата ДНК от ионов железа, содержащихся в культурах (этот метод показал лучший результат для проб, содержащих незначительное количество прикрепленных клеток). В остальных случаях значимых отличий между пробами, содержащими свободные и прикрепленные клетки, обнаружено не было.

Полученные результаты позволяют рекомендовать методику, основанную на активности GuSCN (лизис при 98°C, с последующей очисткой фенолом и хлороформом), к проведению молекулярного анализа структуры сообществ ацидофильных хемолитотрофных микроорганизмов.

Влияние нитропроизводных адамантана на характер роста и протеолитическую активность *As. niger*

Карасева Дарья Николаевна

(СамГУ, Россия, Самара, potailer@mail.ru)

Проблематика работы заключена в поиске новых веществ, обладающих антифунгальными свойствами. По моделированию с помощью компьютерной программы PASC исследуемые нитропроизводные адамантана: 3-нитро-1-адамантанкарбоновая кислота (I), N-адамантоил-О,О-дихлор-п-нитроанилин (II), N-адамантоил-м-нитро-П-толуидин (III), синтезированные к.х.н. Ермохиным В.А., с долей вероятности р 0,65-0,92 могут проявлять

данную активность. Было исследовано влияние плазмохимической полимеризации в тлеющем разряде (PCVD) на биологическую активность нитропроизводных адамантана.

Чистая культура *A. niger* высевалась на агар Чапека и инкубировалась 72 ч при 28°C. Изучаемые соединения растворяли в DMSO и наносили на стерильные диски в действующих концентрациях 100, 150 и 200 мкг/мл. Часть дисков обрабатывали PCVD, время обработки составляло 100, 300 и 600 с. Протеолитическая активность (ПА) определялась по методу Ансона. Характер роста грибных пропагул оценивали с привлечением средств фрактального анализа.

Наблюдалось уменьшение фрактальной размерности (ФР) грибных пропагул, выросших на среде с дисками, обработанными PCVD, в случае (I) вещества и увеличение ФР – (II) и (III) вещества, по сравнению с необработанными в плазме дисками по отношению к адамантану и к контролю (диски с DMSO). У грибной культуры в случае роста совместно с дисками, обработанными PCVD, не регистрировалась ПА клеток. По сравнению с этим, в опыте с необработанными PCVD дисками, вещества (I) и (II) в концентрациях 100 и 150 мкг/мл не изменяли ПА, подавление протеолитической активности наблюдалось в случае вещества (III) во всех концентрациях, и веществ (I) и (II) в концентрации 200 мкг/мл. Больше всего антифунгальным эффектом обладает вещество (III), меньше всего – вещество (I); чем выше показатель ФР, тем более выражен этот эффект: грибные пропагулы растут хаотичнее, края у них неровные. Было доказано, что обработка PCVD увеличивает эти эффекты при времени обработки 100 и 300 с.

Работа выполнена при поддержке ФЦП "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009-2013 гг. Государственный контракт от 6 сентября 2010 г. 14.740.11.0057.

Создание иммобилизованного пробиотического препарата нового поколения Кистаубаева Аида Сериковна

*(Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Биологический факультет,
Казахстан, Алматы, aida_kaz@mail.ru)*

Микрофлора кишечника человека выполняет ключевую роль в обеспечении защиты от патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Биологическое равновесие нормофлоры кишечника часто нарушается, вследствие чего развивается дисбактериоз, приводящий к целому ряду проблем желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

Терапевтической основой для коррекции микробиоценоза кишечника являются пробиотики – бактерии, оказывающие позитивное влияние на организм. По пути в толстый кишечник при их прохождении через верхние отделы пищеварительного тракта обычно происходит значительное снижение расчетной активности препарата, поскольку большая часть интродуцируемых бактерий погибает в желудке и двенадцатиперстной кишке. Решение этой проблемы может быть связано с использованием иммобилизованных форм препаратов.

Нами проводилась иммобилизация клеток лактобацилл на карбонизированной рисовой шелухе (ЗРШ-1). Для иммобилизации были выбраны штаммы молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* AA-1, *Lactobacillus plantarum* AP-1, *Lactobacillus fermentum* AK-2R, которые обладают набором свойств, позволяющих им конкурировать с условно-патогенными микроорганизмами и колонизировать определенный биотоп организма человека. К таким признакам относятся: активность кислотообразования, антагонистическая активность, естественная резистентность к ряду антибиотиков, а также хорошая выживаемость в желудочно-кишечном тракте.

Проведенное электронно-микроскопическое исследование показало, что между микробными клетками и карбонизованным материалом регистрируется сорбционное взаимодействие. Клеточная загрузка используемого сорбента достаточно высокая, при оптимальном соотношении клетки/носитель она составляет 72%, а титр прикрепившихся клеток достигает 10^9 КОЕ/г.

Экспериментально установлено, что антимикробная активность лактобацилл, иммобилизованных на ЗРШ-1, возрастает на 25-60%. Сам сорбент тоже способен связывать

до 28-33% клеток этих микроорганизмов, но наибольшее ингибирование роста тест-культур наблюдается при использовании иммобилизованного на ЗРШ-1 пробиотика. Уже после 48 часов его совместного культивирования с энтеробактериями рост и жизнеспособность тест-организмов практически полностью подавляется.

Таким образом, установлено, что использование энтеросорбентов в качестве носителя для прикрепления пробиотических микроорганизмов обеспечивает решение комплексной задачи – адресной доставки пробиотического препарата, его прикрепления к слизистой кишечника с последующей детоксикацией желудочно-кишечного тракта и нормализацией его микроэкологии.

**Оценка филогенетического разнообразия прокариот черноземов типичных
Колодяжский Александр Юрьевич, Москальская Ю.П.**

*(Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, факультет
Экологии и Биотехнологии, Украина, Киев, O.kolodjashny@i.ua)*

Микроорганизмы-прокариоты играют ключевую роль в формировании биогеохимической системы почвенного покрова. Исследования биоразнообразия и функционирования прокариот почвы является ключевой проблемой современной микробиологии. Использование молекулярно-генетических методов в микробиологии расширило возможности исследований и преодолело проблемы, возникающие в практике классических микробиологических методов исследования.

Изучение прокариот почвы осуществлялось на базе стационарного полевого опыта НУБиП Украины. Почвенные образцы отбирали в период активной вегетации пшеницы озимой из верхнего 15-см пахотного горизонта чернозема. Экстракцию тотальной ДНК проводили с использованием СТАВ-буфера. Для изучения биоразнообразия бактериального комплекса почвы был использован метод полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (rFLP) соответствующих 16S эубактериальных рРНК.

Сравнительный анализ профилей rFLP почвенных прокариот показал значительную разницу между вариантами опыта. Это отображается как в количестве обнаруженных филотивов, так и в структуре их распределения. Установлено, что при использовании промышленной системы земледелия разнообразие доминирующих филотивов почвенных прокариот снижалось. В образцах с использованием экологической и биологической систем земледелия количество филотивов прокариот значительно увеличилось, что объясняется влиянием использования в данных системах земледелия значительного количества органических удобрений. Следует отметить, что большая часть микроорганизмов в исследованных образцах не культивируется на селективных средах.

Таким образом установлено, что в условиях длительного применения различных систем земледелия наблюдается перераспределение филотивов с последующим формированием различных микробных комплексов, которые отличаются структурой доминирующих форм и генетическим разнообразием.

Использование методов молекулярно-генетического анализа дает возможность на новом уровне оценить бактериальное разнообразие почвы и обнаружить новые виды прокариот, некультивируемых на селективных питательных средах. Это позволит целенаправленно использовать агротехнические приемы, улучшающие управление почвенными процессами, повышая культуру земледелия.

**Особенности структуры доминирования микромицетного комплекса чернозема,
выщелоченного при загрязнении 2,4,6-тринитротолуолом**

Кормильцева Инна Петровна, Кутова Л. Ю.
(КФУ, Россия, Казань, idemidova2006@yandex.ru)

Результатом использования взрывчатого вещества 2,4,6-тринитротолуола (ТНТ) стало загрязнение почв обширных территорий. Микробоценоз загрязненной почвы, важное значение в котором занимают микроскопические грибы, находится в состоянии перманентного стресса. Изменяется состав и разнообразие микробного сообщества, которое является надежным показателем степени угнетения почвенной экосистемы.

Целью работы было оценить изменения в структуре сообщества микромицетов при загрязнении чернозема, выщелоченного 2,4,6-тринитротолуолом.

Обнаружение микромицетов осуществляли на средах Чапека, КГА. Определение родовой принадлежности микромицетов вели по определителям Билай, Литвинова.

При диагностировании незагрязненной почвы нами выявлен всего один доминирующий род. Большая часть микромицетов относилась к группе типично редких и случайных. Загрязнение ТНТ и увеличение его концентрации сопровождалось деформацией микоченоза, выражающейся в снижении разнообразия и в изменении структуры доминирования. Уменьшение количества родов произошло, главным образом, за счет исчезновения случайных родов. Между тем известно, что снижение популяционной плотности и потеря чувствительных организмов, часто выполняющих специфические функции, может иметь серьезные экологические последствия.

С увеличением концентрации ТНТ постепенно увеличивалась доля доминирующих родов, составив при максимальной нагрузке более 40%. Среди них выявлены фитопатогенные микромицеты *Cephalosporium* и *Fusarium*, и микромицеты родов *Aspergillus*, *Geomyces*, которые оказались способны активно колонизировать освободившуюся экологическую нишу благодаря обильному спороношению.

Таким образом, по мере возрастания концентрации ТНТ прослеживается проявление его селекционного действия на грибы, толерантные по отношению к ксенобиоту. Микромицеты, выделенные из образцов загрязненной почвы, по литературным данным проявляют высокую устойчивость не только по отношению к ТНТ, но и к другим типам антропогенного воздействия.

Бактерицидная активность пептидных соединений, выделенных из гемолимфы *Galleria mellonella* larvae, иммунизированных смесью культур *Escherichia coli* и *Bacillus cereus*

Костина Динара Александровна

(Самарский государственный университет, Биологический факультет, Россия, Самара, dinaro4ka9546@rambler.ru)

Перспективным объектом для получения новых антибактериальных препаратов являются насекомые, располагающие мощной системой защиты от патогенных микроорганизмов, основу которой составляют бактерицидные и фунгицидные пептиды. Остаются невыясненными условия образования пептидных соединений, обладающих бактерицидными свойствами, а также оценка степени их биологической активности.

Целью исследования стало выделение, очистка и сравнительный анализ бактерицидной активности пептидных соединений гемолимфы личинок *Galleria mellonella*, иммунизированных смесью культур *Escherichia coli* и *Bacillus cereus*.

Выделение и очистку пептидных компонентов гемолимфы проводили методом ВЭЖХ. Массу полученных пептидных фракций определяли масс-спектрометрическим методом MALDI. Антибактериальная активность оценивалась по размерам зон ограниченного роста культур *E. coli* и *B. cereus* на МПА вокруг дисков, пропитанных фракциями.

Было получено всего 14 фракций пептидных соединений. Большинство фракций ограничивают рост только *E. coli*. Для сравнительного анализа были выбраны фракция 1 (2-3.5 мин.), фракция 5 (8-9,5 мин.), фракция 6 (9,5-11 мин.) и фракция 10 (15,5-17 мин.), так как они характеризовались проявлением наибольшей бактерицидной активности по отношению к *E. coli*, а фракции 5 и 10 были активны и по отношению к *B. cereus*.

Фракция 1 после иммунизации содержала два коротких пептида, а один из них обнаруживался и у личинок без иммунизации. Бактерицидный эффект данной фракции обусловлен наличием в ней ранее неизвестного пептида с М.М. 1013 Да. Фракции 5 и 6 содержали в своем составе известный бактерицидный пептид с М.М. 1695-1696 Да, а фракция 6 еще и бактерицидный пептид с М.М. 9161 Да. Бактерицидная активность фракции 5 для *E. coli* не зависит от наличия иммунизации. А по отношению к *B. cereus* активность зависит от наличия иммунизации. Бактерицидная активность фракции 6 по отношению к *E. coli* увеличивается после иммунизации личинок, что, по-видимому, обусловлено появлением

пептида с М.М. 1231 Да, отсутствующего во фракции неиммунизированных личинок. Фракция 10 содержит в своем составе известный бактерицидный пептид с М.М. 4714 Да. Бактерицидная активность фракции 10 для *E. coli* не зависит от наличия иммунизации. А по отношению к *B. cereus* активность зависит от наличия иммунизации и увеличивается после иммунизации личинок. Во фракции 10 иммунизированных личинок обнаруживаются 6 новых пептидов, часть которых, вероятно обладает бактерицидным эффектом по отношению к *B. cereus*.

Исследование антимутагенной активности *Lactobacillus plantarum* 8P-A3

КошкарOVA Лилия Андреевна

(Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Россия, Казань,
lilyakoshkarova@mail.ru)

Антимутагенез привлекает все большее внимание как перспективное направление исследований для поиска средств поддержания стабильности генома и повышения устойчивости к генотоксическому воздействию. Особый интерес представляет выявление антимутагенных свойств у представителей кишечной микрофлоры, в том числе рода *Lactobacillus*, как возможных биопротекторов организма человека.

Целью данной работы явилась оценка антимутагенной активности штамма *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 с помощью теста Эймса, а так же его модификации с преинкубацией на тестерном штамме *Salmonella typhimurium* TA100. В качестве известных мутагенов были использованы азид натрия (5 мкг/чашку) и *N*⁷-аминоцитидин (5 мкг/чашку).

В тесте были использованы образцы суспензии клеток *L. plantarum* 8P-A3 с оптической плотностью 2.6, 1.3, 0.65, 0.325, а так же клетки, подвергнутые тепловой обработке (100°C, 20 минут). Ни один из образцов не показал антимутагенную активность в отношении обоих мутагенов.

В тесте Эймса с преинкубацией суспензии клеток *S. typhimurium* и *L. plantarum*, раствор мутагена в объеме 0.1 мл вносили в разной последовательности в 0.5 мл фосфатного буфера. Исследуемая культура *L. plantarum* 8P-A3 не вызывала значимого снижения количества мутаций, индуцированных использованными мутагенами, ни в одном из вариантов преинкубации.

Таким образом, результаты, полученные в нашей работе, свидетельствуют о том, что исследованный штамм *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 не обладает механизмами, способными снижать мутагенность *N*⁷-аминоцитидина и азиды натрия в тесте Эймса.

Влияние галоид-производных антрацена в двух средах на биолюминесцентную реакцию бактерий

Кудряшева Галина Александровна

(Сибирский Федеральный Университет, Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии, Россия, Красноярск, gusya@nm.ru)

Выявление связи между строением галоидсодержащих веществ и их воздействием на ферментативные процессы является актуальной задачей. С одной стороны, галогенированные соединения – это необходимые составляющие живых организмов, с другой стороны, химические вещества, содержащие галоиды, обладают токсическим действием, механизм которого не всегда до конца установлен. Известно, что галогениды металлов могут оказывать ингибирующее действие на ферментативные реакции, причем этот эффект зависит от массы галоида, входящего в состав данного соединения.

Целью работы являлось установление закономерности воздействия ряда антраценов (антрацен, 9-хлороантрацен, 9-бromoантрацен, 9-йодоантрацен) с увеличивающейся массой галоидного заместителя на ферментативные процессы на примере биолюминесцентной реакции бактерий. Были зарегистрированы спектр испускания и максимальная интенсивность биолюминесценции биферментной системы NAD(P)H:FMN-оксидоредуктаза-бактериальная люцифераза в присутствии разных концентраций антраценов, растворенных в этаноле и диметилсульфоксиде (ДМСО).

Установлено, что тушение биолюминесценции антраценами, растворенными в этаноле, усиливается в ряду антрацен-9 → хлороантрацен-9 → бромоантрацен-9 → йодоантрацен. Эффективная концентрация воздействия красителей в этаноле (при которой максимальная интенсивность снижается на 50%) уменьшается с ростом массы галоидного заместителя. Действие антраценов, растворенных в ДМСО, разбивается по парам: в присутствии антрацена и йодантрацена (1-5 мМ) зарегистрировано активирование биолюминесценции (до 20%), а в присутствии хлор- и бромантрацена – только тушение. Спектральный состав биолюминесценции после добавления антраценов не изменялся.

Изучение влияния химических фунгицидов на жизнеспособность клеток бактерий-антагонистов – основы биопрепаратов

Кузина Елена Витальевна, Леонтьева Т.Н.

(Учреждение Российской академии наук Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Россия, Уфа, biolab316@yandex.ru)

Известно, что биологические средства защиты растений, как правило, уступают химическим фунгицидам по эффективности подавления заболеваний сельскохозяйственных культур. В связи с этим целесообразным представляется применять интегрированную систему защиты растений от болезней (совместное использование биопрепаратов и фунгицидов), что позволит с одной стороны снизить нормы расхода химических препаратов, с другой стороны – обеспечить эффективную защиту растений.

Целью наших исследований была оценка возможности применения фунгицидов Фундазол (д.в. - беномил), ТМТД (д.в. - тирам), Витал (д.в. – тирам + тебуконазол) и биопрепаратов «Елена» (*Pseudomonas aureofaciens* ИБ 51) и «Азолен» (*Azotobacter vinelandii* ИБ 4) в баковых смесях для предпосевной обработки семян. На первоначальном этапе исследований необходимо было оценить, обладают ли фунгициды бактерицидным действием в отношении клеток штаммов бактерий, составляющих основу биопрепаратов.

Установлено, что при обработке семян пшеницы смесевым препаратом из расчета 0,5 дозы химического фунгицида и полная доза биопрепарата химические протравители семян не оказывают на клетки микроорганизмов бактерицидного действия. Так, в случае обработки семян только биопрепаратами «Елена», «Азолен» (контроль) численность клеток штаммов-антагонистов ИБ 51 и ИБ 4 снижается на порядок через сутки-двое после бактеризации. После обработки зерен баковыми смесями фунгицидов и биопрепаратов в варианте с «Еленой» не отмечено снижения численности клеток псевдомонад по истечении двух суток после инкрустирования семян. В варианте с биоудобрением «Азолен»: в присутствии ТМТД численность клеток азотобактера осталась на начальном уровне, в смеси с Фундазолом и Виталом – снизилась на порядок через двое суток.

Эффективность использования баковых смесей была подтверждена производственными испытаниями на горохе в Республике Башкортостан (прибавка урожая в варианте с «Еленой» составила 4,9 ц/га; «Елена» + ТМТД – 5,7 ц/га).

Влияние нового пробиотического препарата на основе бактерий *Lactobacillus plantarum* на микрофлору желудочно-кишечного тракта кроликов

Михеева Регина Олеговна

(Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань, regishka_lady@list.ru)

Пробиотические препараты являются перспективным инструментом в комплексной терапии ряда патологических состояний, протекающих на фоне нарушения нормальной микрофлоры организма человека. Пробиотики – это препараты и продукты питания, в состав которых входят вещества микробного и немикробного происхождения, оказывающие при естественном способе введения благоприятные эффекты на физиологические функции и биохимические реакции организма хозяина через оптимизацию его микробиологического статуса. В производстве пробиотиков широко используются бактерии *Lactobacillus plantarum*. Основным биотопом функциональной активности пробиотических бактерий является желудочно-кишечный тракт (ЖКТ).

Целью настоящей работы явилась оценка влияния нового пробиотического препарата на основе бактерий *Lactobacillus plantarum* на микрофлору ЖКТ кроликов.

Микробиологическим методом оценивали содержание бактерий *L. plantarum* 8P-A3 в образцах фекалий кроликов во время (5 суток) и по окончании (18 суток) приема нового пробиотического препарата. Выяснили эффекты приема препарата на общую микробную численность в кишечнике кроликов и, в частности, на состав и численность группы бактерий семейства *Enterobacteriaceae*. Общая численность микроорганизмов в фекалиях кроликов, принимавших препарат, увеличивалась по сравнению с животными контрольной группы. Однако данный эффект достаточно быстро нивелировался после окончания курса приема пробиотика. У кроликов, получавших препарат, численность бактерий семейства *Enterobacteriaceae* существенно увеличена по сравнению с контрольными животными. Отметим сильное увеличение численности сахаролитических представителей микрофлоры кишечника, зафиксированное у кроликов опытной группы на 4-й день после окончания приема препарата. Таким образом, выявлены существенные различия в количественном и качественном составе микрофлоры ЖКТ кроликов во время и после приема нового пробиотического препарата на основе бактерий *L. plantarum*.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №09-04-97032), ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» П1275 от 09.06.2010 и ГК 02.740.11.0391. Автор выражает благодарность Г.Ф. Ситдиковой (кафедра физиологии человека и животных Казанского федерального университета) за помощь в организации экспериментов на животных, а также научным руководителям Д.Р. Яруллиной и О.Н. Ильинской.

Использование молекулярно-генетических методов исследования ДНК почвенных организмов черноземов типичных

Москалевская Юлия Петровна, Колодяжный А.Ю.

(Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,

факультет Экологии и Биотехнологии, Украина, Киев, yulia_moskalevska@mail.ru)

Известно, что микроорганизмы являются неотъемлемым гомеостатическим составляющим компонентом почвы, который осуществляет и определяет в ней важнейшие функции трансформации веществ и энергии. Микробиоте принадлежит определяющая роль в функционировании различных экосистем, поэтому объективная и наиболее полная оценка биоразнообразия микробного комплекса любой экосистемы является одной из ключевых проблем экологической микробиологии. Эту проблему можно решить, используя молекулярно-генетические методы исследований.

Отработка метода изучения микроорганизмов черноземов проводилась на базе полевого стационарного опыта НУБиП Украины. Почвенные образцы отбирались в период активной вегетации пшеницы озимой из верхнего 15 см пахотного горизонта. В качестве детергента ДНК использовали СТАВ-буфер.

Была проведена оценка биомассы почвенного комплекса по количеству тотальной ДНК всех почвенных организмов в черноземе с помощью спектрофотометра Beckman при применении различных систем земледелия.

Наибольший показатель количества ДНК выявлен при выращивании пшеницы озимой с применением экологической системы земледелия, что свидетельствует о высокой активности почвенной биоты. Применение биологической системы земледелия обуславливало снижение количества ДНК. Самое низкое количество ДНК наблюдается при использовании промышленной системы земледелия с приоритетным использованием промышленных агрохимикатов (300 кг/гектара НРК).

Полученные данные свидетельствуют о том, что видовое биоразнообразие может быть выше в почвах, в которые систематически поступают растительные остатки и органические удобрения. Таким образом, можно утверждать, что органические удобрения способствуют активизации почвенной биоты.

Следовательно, в результате исследований впервые был получен и отработан высокоэффективный метод экстракции тотальной ДНК почвенных микроорганизмов из

черноземов типичных, что в дальнейшей работе позволит изучать структуру и биоразнообразие почвенных микроорганизмов.

**Протеолитическая активность внеклеточных ферментов *Aspergillus ochraceus*
Осмоловский Александр Андреевич**

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, Россия, Москва, aosmol@mail.ru)

Известно, что микромицеты рода *Aspergillus* способны синтезировать различные внеклеточные протеолитические ферменты. Протеиназы аспергиллов могут работать в широком диапазоне pH и температуры, гидролизовать белковые субстраты, проводя прямую протеолитическую реакцию, а также избирательно расщеплять пептидные связи некоторых белков (реакция ограниченного протеолиза). Практический интерес представляет способность протеиназ аспергиллов воздействовать на некоторые белки плазмы крови: фибрин, плазминоген, протеин С.

В данной работе была изучена способность десяти штаммов микроскопических грибов вида *Aspergillus ochraceus* гидролизовать белковые и синтетические субстраты. В качестве белковых субстратов были использованы казеин и фибрин, в качестве синтетических субстратов – p-нитроанилиды пептидов: H-D-Val-Leu-Lys-pNA (на плазмин), Tos-Gly-Pro-Arg-pNA (на тромбин), pGlu-Pro-Arg-pNA (на активированный протеин С).

Изучение протеолитической активности внеклеточных ферментов штаммов с указанными субстратами в динамике в условиях глубинного культивирования показало, что в конце логарифмической - начале стационарной фазы роста секретируются ферменты, способные проводить ограниченный протеолиз белков. Так, предварительная инкубация культуральной жидкости (КЖ) с протеином С плазмы крови и, впоследствии, с субстратом pGlu-Pro-Arg-pNA позволила выявить активаторную к протеину С активность данных микромицетов. Следует отметить, что амидолитической активности по данному субстрату у изученных культур грибов обнаружено не было. Это указывает на специфичность проводимой реакции. Наибольшая удельная активность (в Ед на мл КЖ) по этому субстрату приходится на 1 сутки культивирования. В этот же период развития активность протеиназ по хромогенным субстратам на плазмин и тромбин была незначительной.

В стационарной фазе роста активаторная активность культур падает, и возрастают фибринолитическая и казеинолитическая активности протеиназ – активности, осуществляющие неограниченный протеолиз. Их секреция возрастает к концу культивирования. Определение плазминоподобной активности с соответствующим хромогенным субстратом показало ее корреляцию с протеолитической активностью с фибрином. Плазминоподобная, тромбиноподобная, фибринолитическая и казеинолитическая активности протеиназ изученных штаммов *A. ochraceus* достигают максимума к концу культивирования. Интересно отметить, что протеиназы *A. ochraceus* гидролизуют субстрат на тромбин, отличающийся от субстрата на активированный протеин С наличием одной аминокислоты.

***Escherichia coli* – тест-организм для изучения биологических
магнитно-изотопных эффектов**

Ройба Екатерина Алексеевна, Шееченко У.Г.

(Оренбургский Государственный Университет, Россия, Оренбург, royba@mail.ru)

Магнитно-изотопные эффекты в биологии – новый класс эффектов магнитного поля. Было показано, что скорость ферментативного синтеза АТФ *in vitro* в присутствии в активном сайте фермента магнитного изотопа магния-25 в 2-4 раза выше по сравнению с немагнитными изотопами ^{24,26}Mg. Таким образом, магнитный магний ²⁵Mg является более эффективным ко-фактором, чем немагнитные изотопы данного элемента. Целенаправленные исследования биологических магнитно-изотопных эффектов *in vivo* требуют доскональных знаний о свойствах клеточных подсистем тест-организма.

Биологические магнитно-изотопные эффекты *in vivo* впервые были обнаружены на росте прокариотических клеток *Escherichia coli*. Экспериментальные данные показывают, что в

присутствии магнитного изотопа магния ^{25}Mg параметры скорости роста бактерий и количества колониеобразующих единиц выше, чем для немагнитных изотопов магния ^{24}Mg или ^{26}Mg .

Бактерии *E. coli* предлагаются в качестве тест-организма для изучения биологических магнитно-изотопных эффектов. Накопленные данные о *E. coli* свидетельствуют о существовании приблизительно 300 функционирующих внутриклеточных регуляторных и ферментативных систем, использующих ионы магния. Эти системы могут быть использованы в качестве потенциальных модельных объектов для изучения магниторецепции *E. coli* и других живых организмов.

Работа выполнена в рамках проектов РФФИ № 10-03-01203а и № 10-04-96083 и при поддержке Федеральной Программы Министерства Образования и Науки РФ – Гос. контракты № 02.740.11.0703 и № P207.

Скрининг липолитических активных штаммов, перспективных для очистки жиросодержащих сточных вод Сармурзина Зинигуль Сериковна

(Республиканская коллекция микроорганизмов, Казахстан, Астана, sarmurzina@list.ru)

Применение микроорганизмов является эффективным способом для очистки сточных вод от жиров. Наиболее часто используют микроорганизмы родов *Pseudomonas sp.* и *Bacillus sp.*

Объектами исследований являются штаммы *Pseudomonas aeruginosa* Zb32, выделенные из почвы, *Bacillus subtilis* Zb52 – из растительной ниши, *Pseudomonas aeruginosa* G23 – из системы городского водоотведения, *Aeromonas punctata* G30 – из активного ила аэротенков очистных сооружений, отобранные из 205 изолятов культур микроорганизмов путем качественного и количественного определения липолитической активности. Культивирование проводили на среде Раймонда с бараньим, говяжьим и свиным жиром при температуре 37°C в течение 7 суток, где остаточное содержание жиров определяли взвешиванием после экстракции гексаном.

Как показали наши исследования, степень биодegradации бараньего жира у штамма *P. aeruginosa* Zb32 составляет 67%, говяжьего и свиного – 72 и 93%, соответственно. Штамм *B. subtilis* Zb52 на 83% утилизировал бараний жир и на 88% – говяжий. Для штамма *B. subtilis* Zb52 наилучшие результаты были получены со свиным жиром (степень деструкции составила 91%). Схожие результаты были получены для штамма *P. aeruginosa* G23. После 7 суток культивирования утилизация бараньего, говяжьего и свиного жира составила 89, 91 и 95%, соответственно. Также нами установлено, что штамм *A. punctata* G30 имеет наилучшие результаты по биодegradации изученных жиров. Степень деструкции бараньего жира составила 95%, говяжьего – 97% и для свиного жира наблюдалась 100%-ная утилизация.

В проведенном исследовании нами было выявлено, что все исследуемые штаммы бактерий утилизируют жиры с достаточно высокой активностью. Однако бараний жир утилизировался хуже, чем говяжий и свиной жиры (степень деструкции колебалась от 67 до 95%). По-видимому, это обусловлено плохим эмульгированием в воде, консистенцией и более высокой температурой плавления – 44-55°C (температура плавления говяжьего – 44-51°C и свиного – 36-46°C). Таким образом, исследование показало, что штаммы бактерий *P. aeruginosa* Zb32, *B. subtilis* Zb52, *P. aeruginosa* G23 и *A. punctata* G30 эффективно утилизируют жиры животного происхождения.

Деструкция нитроароматических ксенобиотиков штаммом дрожжей *Yarrowia lipolytica* AN-L15 при непрерывном культивировании Сафиуллина Ляйсан Фаридовна

(Казанский (Приволжский) федеральный университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Казань, laysansafu1lina@rambler.ru)

2,4,6-Тринитротолуол (ТНТ) является одним из наиболее распространенных ксенобиотиков. Свою известность он получил вследствие широкого применения в военной промышленности, что привело к загрязнению обширных территорий. На сегодняшний день

ТНТ также используется при производстве полимеров и красителей. Синтез данных соединений сопровождается аккумуляцией загрязненной воды, в последствии сбрасываемой в водоемы, что, в свою очередь, ведет к дополнительным экологическим проблемам. Кроме этого, ТНТ характеризуется высокой токсичностью и устойчивостью к различным способам деградации. Все это ведет к необходимости создания новых эффективных технологий очистки ТНТ-загрязненных объектов.

На данный момент широко исследуется возможность детоксикации ТНТ-содержащих сточных вод при участии микроорганизмов. Для 2,4,6-тринитротолуола известны два пути биотрансформации: 1) по пути восстановления нитрогрупп и 2) по пути редукции его ароматического кольца. Первый путь осуществляется подавляющим большинством микроорганизмов, однако характеризуется накоплением высокотоксичных метаболитов, в частности гидроксиламино-динитротолуолов. Второй путь, обнаруженный лишь у небольшого спектра микроорганизмов, связан с последовательным образованием неустойчивых комплексов Мейзенгеймера. К таким редким микроорганизмам относится выделенный нами штамм гемиаскомицетных дрожжей *Yarrowia lipolytica* AN-L15. В условиях периодического режима культивирования была обнаружена его устойчивость к высоким концентрациям ТНТ (до 200 мг/л), а также способность разрушать исходный ксенобиотик. В условиях непрерывного режима культивирования было достигнуто пространственное разделение метаболитов каждой стадии гидрид-ионного восстановления ТНТ (по пути редукции ароматического кольца). Так, в последовательно соединенных биореакторах #1 и #2 аккумулировались темно-красный моногидридный и желто-оранжевые дигидридные комплексы Мейзенгеймера, соответственно. В биореакторе #3 происходило разрушение образовавшихся комплексов с накоплением нитрит- и нитрат ионов в качестве конечных минеральных форм азота.

Таким образом, в условиях непрерывного режима культивирования штамма дрожжей *Yarrowia lipolytica* AN-L15 в присутствии ТНТ происходит более эффективная и быстрая деструкция исходного токсиканта, что делает разработанный способ перспективным при очистке ТНТ-загрязненных объектов.

Влияние дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* на ювенильные растения фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris*)

Симонова Александра Александровна, Терехина Л. Д.

(Ульяновский государственный университет, Россия, Ульяновск, aleksa-simonova@mail.ru)

В настоящее время в сельском хозяйстве все чаще отказываются от применения химических пестицидов, заменяя их экономически выгодными и экологически безопасными для окружающей среды биологическими средствами защиты растений. Наибольший интерес в этом отношении представляет спорообразующая грамположительная бактерия *Bacillus thuringiensis*, которая, являясь естественным компонентом микрофлоры почв, характеризуется высокой эффективностью и сравнительной безопасностью для теплокровных животных.

B. thuringiensis – спорообразующая бактерия, различные подвиды которой обладают избирательным действием в отношении не только насекомых, но и некоторых микроорганизмов. Токсический агент *B. thuringiensis* – специфические дельта-эндотоксины, входящие в состав параспоральных включений. Установлен механизм действия токсина на клетку кишечника насекомых, заключающийся в разобщении процессов окислительного фосфорилирования и дыхания, деэнергизации и последующему разрушению клеток.

Целью работы явилось изучение влияния дельта-эндотоксина *B. thuringiensis* на ювенильные растения фасоли (сорта Кустовая) *in vitro*. Трехсуточные проростки раскладывали в пробирки со стерильным увлажнением песком и далее выращивали при 28-30° в условиях 16-часового дня. Растения обрабатывались токсином в ультрамалой концентрации однократно, в момент закладки опыта. Использовали несколько контрольных вариантов. В первые три дня наблюдений происходило незначительное угнетение проростков под влиянием раствора кристаллов, которое проявлялось, прежде всего, в замедлении роста. По окончании эксперимента показатели выровнялись, и отмечалось

опережение по морфометрическим и биохимическим показателям у образцов, обработанных раствором дельта-эндотоксина.

Таким образом, можно полагать, что использование раствора кристаллов дельта-эндотоксина для предпосевного замачивания семян с целью их последующей стимуляции весьма перспективно и представляет большой практический интерес.

**Влияние загрязнения почв тяжелыми металлами
на биологическую активность почв
Синтенкова Ольга Валерьевна**

*(Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
факультет Почвоведения, Агрохимии и Экологии, Россия, Москва, basya1201@rambler.ru)*

В опыте проводилось изучение эффективности действия бактерии рода *Klebsiella* на загрязненных тяжелыми металлами почвах.

Для проведения лабораторных исследований по изучению эффективности действия препарата использовали следующие субстраты: торф низинный, дерново-подзолистая почва, речной песок. В качестве загрязнителей выступали $ZnSO_4$, $CuSO_4$, $PbCO_3$.

Биологическую активность почвы определяли методом микробиологического посева (подсчет колоний на питательных средах) и измерением дыхания почвы на газовом хроматографе.

Бактериями рода *Klebsiella* были инокулированы семена растений, которые в последствие посадили в используемые субстраты. Это оказало положительный эффект на микробиологическую активность. В результате проведенного опыта было установлено увеличение микробиологической активности при загрязнении почвы и инокуляции бактериями. Бактерии рода *Klebsiella* благоприятно воздействовали на биологическую активность почв, что отразилось на показателях базального дыхания.

Также было определено влияние инокуляции семян на биометрические показатели растений.

**Резистентность *Lactobacillus* к холодовому шоку
Тыныбаева Индира Кажымухановна**

(Республиканская коллекция микроорганизмов, Казахстан, Астана, indiara@mail.ru)

Lactobacillus обладают конкурентноспособностью по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам. Одним из важных факторов является их выживаемость при воздействии различных стрессовых факторов. Часто при транспортировке и хранении продуктов в охлажденном состоянии (при температуре от 10 до $-2^{\circ}C$) молочнокислые бактерии подвергаются холодовому температурному шоку. Резкий перепад температуры приводит к потере жизнеспособности микроорганизмов, а также к изменению физических свойств клеточных мембран. Эти изменения необходимы для запуска ответа при воздействии стрессовых факторов, который обеспечивает адаптацию.

В качестве объектов исследованы 13 штаммов *Lactobacillus paracasei*, выделенных из кумыса, айрана, шубата, и являющихся уникальными, что было подтверждено с использованием метода МЛСТ и ранее исследованных штаммов. Также в качестве контрольной группы использовались штаммы *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. casei* и *L. fermentum* ATCC 9338 из фонда Республиканской коллекции микроорганизмов Казахстана. Резистентность молочнокислых бактерий к холодовому шоку исследовали инкубированием культур с оптической плотностью 0,5 при 600 нм в водяной бане при температуре $5^{\circ}C$ в течение 10-12 минут.

В результате проведенных исследований резистентности бактерий рода *Lactobacillus* к холодовому шоку было установлено, что у 3 культур имеется низкая резистентность, которая составила $0,01-0,1 \times 10^4$, у 10 культур – $0,2 \times 10^4-1,8 \times 10^4$, что показывает среднюю резистентность, оставшиеся 6 культур продемонстрировали высокую резистентность, которая составляла $2,0 \times 10^4-5,0 \times 10^4$. При этом показатели резистентности контрольных штаммов *L. fermentum*, *L. fermentum* ATCC9338 и *L. helveticus* составляли $0,8 \times 10^4$, $0,8 \times 10^4$ и $1,4 \times 10^4$, соответственно.

Основными пробиотическими свойствами являются адгезивная активность, антагонизм по отношению к условно-патогенной и патогенной флоре, устойчивость к действию антибиотиков и антиоксидантные свойства. Нами проводятся работы по исследованию вышеуказанных свойств с использованием технологии real-time PCR анализа генов *ldh*, *ссрА*, *mucus adheson gene* при воздействии стресс факторов.

Изучение выживаемости и некоторых свойств бифидобактерий при различных способах хранения

Харченко Наталья Васильевна

(Кафедра микробиологии Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва, taniacherd@yandex.ru)

Целью настоящей работы является изучение выживаемости бифидобактерий при различных способах хранения. Исследовалось сохранение у них таких важных свойств как устойчивость к кислороду, к желчным кислотам и к антибиотику тетрациклину, благодаря которым изучаемые бифидобактерии могут найти применение в промышленности в качестве пробиотиков.

Выбраны два способа хранения трех штаммов бактерий: *Bifidobacterium* sp.16, *Bifidobacterium* sp.55 и *Bifidobacterium* sp.58, выделенных из экскрементов взрослых людей: в лиофильно высушенном состоянии и в глицерине при -20°C. Эксперимент был рассчитан на 6 месяцев, а каждую пробу изучали в трех повторностях.

Процент выживания *Bifidobacterium* sp.16, *Bifidobacterium* sp.55 и *Bifidobacterium* sp.58 при хранении в лиофильно высушенном состоянии после первого месяца составлял 5,6-6,9%, а после 6 месяцев хранения – 0,1-0,15%.

Процент выживания *Bifidobacterium* sp.16, *Bifidobacterium* sp.55 и *Bifidobacterium* sp.58 при хранении под глицерином после первого месяца хранения составлял 66,4-81,7%, а после 6 месяцев – 0,6-1,0%.

Показано, что выживаемость бифидобактерий выше при хранении под глицерином. Не рекомендуется длительное хранение этих бактерий.

При длительном хранении устойчивость к кислороду у *Bifidobacterium* sp.16 уменьшилась, а у *Bifidobacterium* sp.55 и 58 осталась практически на том же уровне.

Пробиотические свойства, такие как устойчивость к воздействию желчных кислот, у исследуемых *Bifidobacterium* sp.16, 55 и 58 после хранения остались на прежнем уровне.

Чувствительность к тетрациклину сохранилась у всех изучаемых трех штаммов бифидобактерий.

Ацидофильные микроорганизмы отвалов флотационного обогащения руд *Черкасова Дарья Владимировна, Личманов А. А.*

(Институт биологии Уфимского научного центра РАН, ГОУ ВПО Уфимский государственный нефтяной технический университет, Россия, Уфа, biolab316@yandex.ru)

Отвалы горно-обогатительных предприятий, содержащих сульфиды, представляют собой специфическую экосистему, многие характерные черты которой (низкий рН, насыщенность ионами металлов) формируют ацидофильные микроорганизмы.

Целью нашей работы была характеристика ацидофильного микробного сообщества отвалов флотационного обогащения руд Учалинского горно-обогатительного комбината.

Для этого в июне-июле 2010 года были отобраны образцы подотвальных и флотационных вод, отходов флотации и почв у подножия отвалов, содержащих отходы флотации руд, и сделаны микробиологические посевы для выделения железоокисляющих, сероокисляющих, миксотрофных и гетеротрофных микроорганизмов на стандартных питательных средах.

Оборотная вода для флотации, которая имела щелочную реакцию (рН=11,31), и намывты в текущем сезоне отвалы (рН=5,48) не содержали микроорганизмов указанной группы. Из отвалов, намывты в предыдущем сезоне (рН=3,40), были выделены лишь микроорганизмы, способные к окислению железа. Более разнообразное сообщество, состоящее из автотрофных, миксотрофных и гетеротрофных ацидофильных

микроорганизмов, было выделено из подотвальных вод и почв, прилегающих к отвалам. Численность железобактерий там составила 6×10^4 КОЕ/мл и 6×10^2 КОЕ/г, а сероокисляющих бактерий – 1×10^4 КОЕ/мл и 6×10^3 КОЕ/г, соответственно. Гетеротрофные ацидофильные микроорганизмы были представлены бактериями и грибами. Гетеротрофные бактерии обнаруживались преимущественно в почве (до $3,1 \times 10^3$ КОЕ/г) из-за более высокого содержания в ней органического вещества.

Таким образом, водоемы и почвы в основании отвалов содержат сложное сообщество ацидофильных микроорганизмов и являются перспективным объектом для их выделения и изучения.

Образование биопленки условно-патогенными микроорганизмами, выделенными из разных источников

Шакирова Римма Фанилевна, Федотова А.С., Латыпова Г.В.

(Югорский государственный университет, Ханты-Мансийская государственная медицинская академия, Россия, Ханты-Мансийск, Fedotova_AS@mail.ru)

В последние годы значительно возрос интерес к микробным биопленкам, образуемым патогенными и условно-патогенными микроорганизмами на различных биотических и абиотических поверхностях. В литературе практически отсутствует информация о применении чувствительных методов, позволяющих количественно оценить способность условно-патогенных микроорганизмов к формированию биопленки. Цель настоящей работы состояла в оценке способности условно-патогенных микроорганизмов (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*) к формированию биопленки по изменению краевого угла смачивания ее поверхности. В работе было использовано по 20 штаммов каждого микроорганизма, выделенных из разных биотопов больных инфекционного отделения ОКБ г. Ханты-Мансийска. Биопленку получали в питательных бульонах на поверхности стеклянных и агаровых пластинок (2,5×2,5 см). Кинетику образования изучали по изменению краевого угла смачивания ($\Theta, ^\circ$) поверхности биопленки вазелиновым маслом. Полученные результаты обрабатывали в полулогарифмических координатах ($\ln(\Theta) - t$), по тангенсу угла наклона к начальному участку кривой находили удельную скорость образования биопленки данного штамма ($\mu_b, \text{ч}^{-1}$).

В результате проведенных исследований выявлены статистически достоверные различия в способности к образованию биопленки у исследованных штаммов микроорганизмов. Сравнительный анализ значений μ_b показал, что в целом *P. aeruginosa* лучше, чем *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans*, формирует биопленки в условиях нашего эксперимента. Полученные результаты позволяют констатировать наименьший разброс признака биопленкообразования у *P. aeruginosa*, значения μ_b изменяются в пределах от $(4,9 \pm 0,1) \times 10^{-2}$ до $(5,7 \pm 0,2) \times 10^{-2} \text{ ч}^{-1}$. Тогда как исследованные штаммы *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* могут существенно отличаться по этому признаку. При сравнении значений удельной скорости образования биопленки всеми исследуемыми микроорганизмами следует отметить, что штаммы, выделенные из крови, имеют наибольшее значение удельной скорости образования биопленки (от $2,6 \times 10^{-2}$ до $8,8 \times 10^{-2} \text{ ч}^{-1}$).

Авторы выражают благодарность за научное руководство и ценные практические советы доценту В.В. Леонову.

Изучение влияния трегалозы на образование глюкозооксидазы грибом *Penicillium adametzii* ЛФ F-2044.1

Шахнович Елена Васильевна

(Институт микробиологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, enzyme@mbio.bas-net.by)

Глюкозооксидаза (К.Ф. 1.1.3.4.) – фермент класса оксидоредуктаз, широко используется в аналитической биотехнологии. Глюкозооксидаза применяется в производстве био- и наносенсоров и является незаменимым реагентом в ферментных и иммуноферментных методах анализа. Фермент востребован в пищевой и химической промышленности. Основными промышленными продуцентами фермента являются мицелиальные грибы, относящиеся к родам *Aspergillus* и *Penicillium*. Для повышения уровня продукции

глюкозооксидазы грибами-продуцентами в качестве добавок в питательную среду применяют соединения различной химической природы – сахара, сахароспирты, полисахариды и др. Особый интерес вызывает трегалоза – дисахарид, являющийся в клетках микроорганизмов резервным углеводом, одним из регуляторов процессов метаболизма и др. Кроме того, трегалоза участвует в стабилизации белков, в частности, глюкозооксидазы. Ранее в лаборатории ферментов Института микробиологии НАН Беларуси был отобран высокоактивный продуцент глюкозооксидазы – *P. adametzii* ЛФ F-2044.1, а также разработаны способы получения ферментного препарата различной степени очистки и определены аспекты его применения.

Цель работы – изучение влияния трегалозы на образование глюкозооксидазы *P. adametzii* ЛФ F-2044.1.

Влияние трегалозы на образование глюкозооксидазы *P. adametzii* ЛФ F-2044.1 изучали при ее внесении в питательную среду для глубинного культивирования в концентрациях 0,001 мМ, 0,01 мМ, 0,025 мМ и 0,05 мМ. В результате выполненных исследований выявлена зависимость влияния указанного вещества на продукцию фермента грибом от используемой концентрации. Внесение в питательную среду трегалозы в концентрации 0,05 мМ не влияло на процесс образования фермента. Повышение уровня продукции глюкозооксидазы отмечено при использовании в составе питательной среды 0,025 мМ трегалозы. Максимальный эффект установлен при внесении в среду дисахарида в концентрациях 0,01-0,001 мМ. Уровень продукции фермента повысился на 27-30%, а продуцирующая способность – на 45-50%.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что трегалоза оказывает стимулирующее действие на образование глюкозооксидазы грибом *P. adametzii* ЛФ F-2044.1 и может использоваться в качестве фактора синтеза фермента.

Разнообразные адаптивные стратегии *Erwinia carotovora* в условиях голодания

Шлыкova Любовь Владимировна, Даминова А.Г., Хусаинов И.Ш.

(Казанский (Приволжский) Федеральный Университет им. Ульянова-Ленина, Россия, Казань, persent_89@mail.ru)

Хорошо известно, что адаптивный потенциал неспорообразующих микроорганизмов во многом связан с их способностью трансформироваться в покоящиеся морфотипы. Учитывая разнообразие стрессовых воздействий, которым подвержены микроорганизмы в естественных условиях, а также неодинаковое физиологическое состояние микроорганизмов в момент стрессового воздействия, логично предположить существование множества адаптивных программ в популяции бактерий. Это предположение мы решили проверить на примере фитопатогенной бактерии *Erwinia carotovora* SCRI1043. В план наших исследований входила оценка особенности адаптивных реакций бактерий в логарифмической и стационарной фазах роста.

Клетки *Erwinia* на разных фазах роста культуры переносили в минеральную среду без источника углерода и проводили статическую инкубацию в течение нескольких месяцев. Титр КОЕ в таких культурах снижался, однако титр геномных копий в большинстве случаев был значительно выше, что свидетельствует в пользу активного образования покоящихся клеток. Соотношение между показателями титра КОЕ и геномных копий было выше в культурах, инокулированных стационарными клетками. В противоположность этому индекс ингибирования амплификации, определенный с помощью ПЦР анализа, был выше в культурах клеток логарифмической фазы роста. С помощью метода электронной микроскопии были обнаружены ультраструктурные особенности клеток голодающих культур логарифмической и стационарной фаз роста.

Полученные нами данные, позволяют заключить, что выбор адаптивной программы в популяции микроорганизмов зависит от исходного физиологического состояния клеток, подвергаемых стрессовому воздействию, что дает возможность бактериям гибко реагировать на изменение внешних условий.

**Изучение влияния ионов железа(II) на ростовые характеристики
Staphylococcus aureus и *Escherichia coli*
Якубенко Светлана Александровна**

(Югорский государственный университет, Россия, Ханты-Мансийск,
svetlana.jakubenk@rambler.ru)

Патогенные бактерии в отличие от бактерий, живущих в окружающей среде, при попадании в организм человека находятся в условиях дефицита и конкуренции за железо с железосвязывающими белками. Существует точка зрения, что наибольшей активностью сидерофоров и железозависимостью свойств обладают штаммы бактерий, выделенные из крови.

Целью данной работы явилось изучение влияния ионов железа (Fe^{2+}) на ростовые характеристики *S. aureus* и *E. coli*, выделенных из разных источников.

Для эксперимента использовали по 8 штаммов *S. aureus* и *E. coli*, выделенных из разных биотопов больных ОКБ г. Ханты-Мансийска. В качестве эталонов использовали стандартные штаммы международных коллекций: *S. aureus* ATCC 25923, VT 209 и *E. coli* ATCC 25922, 35218. Изучение влияния ионов Fe^{2+} на рост бактерий проводили на железodefицитной питательной среде, приготовленной на основе мясо-пептонного бульона. Железо вносили в среду в виде раствора $FeSO_4$ до конечной концентрации 0,1-50,0 мкМ. Рост микроорганизмов контролировали турбидиметрически при $\lambda=540$ нм. Для описания влияния железа на рост использовали уравнение для ингибирования роста избытком субстрата.

В результате определения константы сродства исследованных штаммов к ионам железа(II) они были разделены на три группы: с $K_s < 10$ мкМ – сильно железозависимые, с $K_s = 10-100$ мкМ – слабо железозависимые и с $K_s > 100$ мкМ – нежелезозависимые. Доля штаммов, у которых отмечался признак железозависимости, для *S. aureus* составила 60%, для *E. coli* 90%. Результаты проведенного исследования подтвердили предположение о том, что штаммы, выделенные из крови, обладают наибольшей железозависимостью. Сравнительный анализ значений K_s *E. coli* и *S. aureus* показал, что в условиях нашего эксперимента наибольшую железозависимость имеет *E. coli*.

ПОДСЕКЦИЯ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Молекулярно-генетическое исследование немертин рода *Oerstedtia* (Monostilifera, Tetrastemmatidae)

Ахматова Алина Федоровна

(Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского (ИБМ) ДВО РАН, Россия,
Владивосток, *Ahmatova.alina@mail.ru*)

Настоящая работа представляет собой молекулярно-генетическое исследование широко распространенных в заливе Петра Великого Японского моря видов гопплонемертин рода *Oerstedtia* Quatrefages, 1846 - *O. oculata* Kulikova, 1987, *O. zebra* Chernyshev, 1993, *O. phoresiae* Kulikova, 1987 и *O. valentinae* Chernyshev, 1993. Все они изначально были описаны как представители рода *Oerstedtiella* Friedrich, 1935, но затем перенесены в род *Oerstedtia*. Эти виды являются весьма схожими по признакам внешней морфологии, однако имеются некоторые различия, во-первых, в окраске и размерах тела, во-вторых, в строении слепой кишки (*O. phoresiae* несколько отличается от *O. oculata* и *O. zebra*), и, кроме того, периоды размножения у данных видов не совпадают (апрель-май у *O. valentinae*, май-июнь у *O. oculata* и *O. zebra*, июль-август у *O. phoresiae*).

Молекулярно-генетическое исследование проводилось на основе данных о первичной последовательности фрагмента ядерной ДНК, кодирующего 28S рибосомальную РНК. В общей сложности получены и проанализированы последовательности 15 экземпляров исследуемых видов. В анализ также были включены данные из генного банка по исследуемому гену для *O. zebra* и *O. venusta* с побережья Японии, а также *O. dorsalis* с побережья Европы.

Ранее методами аллозимного анализа было показано, что хорошо различимые по окраске тела *O. oculata* и *O. zebra* генетически идентичны, а внешне похожие *O. oculata* и *O. phoresiae* по аллозимным маркерам, как оказалось, очень сильно различаются. Проведенный молекулярно-генетический анализ на основе анализа первичных последовательностей ядерного 28S рибосомального гена подтверждает эти выводы. А именно, полученные данные позволяют установить, что, во-первых, экземпляры *O. zebra* и *O. valentinae* не имеют отличий от *O. oculata* и, во-вторых, *O. oculata* и *O. phoresiae* действительно являются самостоятельными видами. Таким образом, *O. zebra* и *O. valentinae* следует признать младшими синонимами *O. oculata*. Кроме того, молекулярно-генетический анализ позволил установить, что *O. phoresiae*, ранее известная только из Японского моря, обитает и на литорали острова Чеджу (Южная Корея). Наконец, показано, что *O. venusta* sensu Thollesson and Norenburg из прибрежных вод Хоккайдо следует относить к *O. oculata*.

Молекулярная характеристика лекарственной устойчивости к изониазиду и рифампицину клинических изолятов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных из Восточного и Западного Казахстана

Ахметова Айнуяр Жармухамбетовна, Кожамкулов У.А.

(Национальный Центр Биотехнологии, Казахстан, Астана, *a.akhmetova.zh@gmail.com*,
kzulan@gmail.com)

С каждым годом в Казахстане регистрируется все больше случаев мультирезистентного (Multidrug resistance - MDR) туберкулеза, обуславливающего устойчивость к основным противотуберкулезным препаратам первого ряда – изониазиду и рифампицину. По данным различных авторов, 60-96% всех изониазид-устойчивых штаммов имеют мутации в *katG*, 10-15% в *ahpC* и 21% в *inhA* генах, а 96-98% всех рифампицин-устойчивых штаммов имеют мутации между 507 и 533 кодонами *rpoB* гена.

В данной работе были исследованы 89 MDR клинических изолятов *M.tuberculosis* из Восточного и Западного Казахстана. Лекарственная чувствительность *M. tuberculosis* к изониазиду и рифампицину определялась методом абсолютных концентраций, согласно рекомендациям ВОЗ. Амплификацию фрагментов *katG*, *fabG-inhA* и *ahpC-oxuR* промоторной

области, а также *rpoB* *M.tuberculosis* проводили в амплификаторе (Tetrad 2 BioRad, США). Определение нуклеотидных последовательностей данных генов осуществляли с помощью генетического анализатора ABI 3730 (Applied Biosystems, США). Полученные последовательности генов сравнивали с референсной последовательностью штамма *M.tuberculosis H37Rv* с помощью программы SeqScape (Applied Biosystems).

Среди 89 MDR изолятов было обнаружено 6 различных вариантов мутаций в 2 кодонах *rpoB* гена Ser531, His526. Преобладала замена TCG531→TTG (Ser531→Leu) *rpoB* гена - у 76 (85.4%) изолятов. В двух случаях (2.2%) обнаружена замена Ser531→Tyr. Наиболее варибельным оказался 526 кодон *rpoB* гена, где было выявлено 4 различных вариантов однонуклеотидных замен. У 3 изолятов (3.4%) мутаций в гене *rpoB* не было обнаружено. В гене *katG* у всех 89 изолятов (100%) выявлена мутация Ser315Thr. 8 (9%) изолятов показали двойные мутации. Так у 5 (5.6%) изолятов отмечена мутация Ser315Thr в сочетании с мутацией в -15C-T позиции промоторной области *fabG-inhA* и у 3 (3.4%) изолятов отмечена мутация Ser315Thr с мутацией в -8T-A позиции в *fabG-inhA*. Не было обнаружено никаких мутаций в промоторной области оперона гена *oxyR-ahpC*.

Таким образом, было выявлено, что для популяции *M. tuberculosis*, циркулирующей на территории Восточного и Западного Казахстана, характерна высокая частота встречаемости мутаций в горячих точках *rpoB* гена и мутации в *katG*-гене определяющих устойчивость к рифампицину и изониазиду.

Некодирующая транскрипция влияет на коммуникативную активность энхансеров генов *white* и *yellow* *D. melanogaster*.

Давыдова Анна Игоревна

(Институт Биологии гена РАН, Россия, Москва, anya_davydova@mail.ru)

Тканеспецифичная и различающаяся на разных стадиях развития организма активация транскрипции генов высших эукариот зависит от активного статуса цис-регуляторных ДНК-элементов: промотора гена, на котором собираются белки основного транскрипционного комплекса, и энхансеров, которые, посредством регуляторных белков, усиливают транскрипцию. В активности энхансеров можно выделить две составляющие: активационную (способность значительно увеличивать транскрипцию гена-мишени) и коммуникативную (способность взаимодействовать с промотором на большом расстоянии). В данной работе проведено исследование влияния некодирующей транскрипции на активность энхансеров генов *white* и *yellow* *Drosophila*.

Основным подходом в реализации данного проекта было создание трансгенных конструкций с последующей интеграцией их в геном *Drosophila* путем микроинъекции плазмидной ДНК в эмбрионы. Было протестировано влияние транскрипции на активность энхансеров с индуцируемого UAS-промотора (минимальный промотор гена *hsp70* под контролем сайтов связывания для белка-активатора дрожжей GAL4). Для индукции высокого уровня транскрипции через исследуемые энхансеры, трансгенные линии скрещивались с линией, несущей ген GAL4-активатора под контролем сильного тубулинового промотора.

В результате было установлено, что транскрипция, проходящая через энхансеры генов *white* и *yellow*, инактивирует способность энхансеров усиливать транскрипцию генов на расстоянии (коммуникативную активность). Показано, что наблюдаемый эффект не связан с конкуренцией энхансеров за сигнал промотора. Дополнительно было продемонстрировано, что наличие в системе терминатора транскрипции стабилизирует экспрессию трансгена, предотвращая репрессивный эффект транскрипции на энхансеры.

Полученные данные свидетельствуют о возможности наличия дополнительного механизма, контролирующего способность энхансеров активировать транскрипцию.

Данное исследование было проведено при поддержке РФФИ (грант № 09-04-00903-а), гранта Президента РФ МК-3421.2011.4. Автор выражает благодарность академику Георгиеву П.Г. за руководство и помощь в проведении экспериментов.

Анализ сайленсер-блокирующей активности Wari-инсулятора *D. melanogaster*

Ерохин Максим Максимович

(Учреждение Российской Академии Наук Институт Биологии гена РАН, Россия, Москва, yermxbio@yandex.ru)

Инсуляторы классически определяются двумя их экспериментально установленными свойствами: энхансер-блокирующей и барьерной активностями. Инсуляторы характеризуются асимметричностью действия: они блокируют действие энхансера (энхансер-блокирующая активность) только если расположены между ним и промотором гена. Барьерная активность инсуляторов ограничивает распространение гетерохроматина и, как следствие, репрессии гена. Обе активности инсуляторов необходимы для сайленсер-блокирующей активности инсуляторов, т.е. способности блокировать реессию, опосредованную белками группы Polycomb (PRE-элементами). Недавно нами был обнаружен инсулятор, названный Wari. Этот инсулятор находится в геноме между геном *white*, отвечающим за пигментацию глаз, и геном *CG32795*.

Анализ сайленсер-блокирующей активности Wari-инсулятора был проведен на трансгенных линиях дрозодилы; для характеристики белков инсулятора использовался метод иммунопреципитации хроматина.

Было показано, что ранее обнаруженная 368 п.н. функциональная область Wari-инсулятора достаточна для блокирования репрессии, опосредованной сайленсером. Хотя Wari-инсулятор не содержит сайты связывания для известных ДНК-связывающих инсуляторных белков, белки E(y)2 и CP190 взаимодействуют с Wari-инсулятором *in vivo*. Известно, что данные белки взаимодействуют с Su(Hw)-зависимыми инсуляторами. Вполне вероятно, что рекрутирование данных инсуляторных компонентов на ДНК-последовательность Wari-инсулятора происходит за счет пока не известных ДНК-связывающих инсуляторных белков. Кроме того, мы показали, что частичная инактивация белка E(y)2 за счет введения мутации $e(y)2^{ul}$, нарушает только сайленсер-блокирующую, но не энхансер-блокирующую активность Wari-инсулятора.

Таким образом, белок E(y)2 необходим для сайленсер-блокирующей активности Wari-инсулятора.

Данное исследование было проведено при поддержке РФФИ (грант № 09-04-00903-а), гранта Президента РФ МК-3421.2011.4. Автор выражает благодарность академику Георгиеву П.Г. за руководство и помощь в проведении экспериментов.

Глюкантрансфераза Bgl2p клеточной стенки дрожжей: структура и функции.

Плотникова Татьяна Александровна, Безсонов Е.Е.

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, plotta@inbox.ru)

Клеточная стенка полностью покрывает дрожжевую клетку. Основными структурными компонентами данной органеллы являются глюкан (50-60%), маннопротеины (40-50%) и хитин (менее 5%). Bgl2p – мажорный нековалентносвязанный с глюканом белок клеточной стенки дрожжей, обладающий глюкантрансферазной активностью. Этот белок давно и интенсивно изучается, однако вплоть до начала нашей работы его структура и функции были неясны. Для выявления роли этого фермента в клеточной стенке методом сайтно-направленного мутагенеза, основанного на гомологичной интеграции линейного фрагмента ДНК в геном дрожжевой клетки, нами был нарушен ген BGL2 в дрожжах *Hancenula polymorpha*, характеризующихся отсутствием системы хитинового репарации клеточной стенки, а также создана коллекция изогенных мутантов дрожжей *S. cerevisiae* с делециями генов глюкантрансфераз Bgl2p и Gas1p по отдельности и с двойной делецией генов сразу обоих ферментов для исключения взаимной компенсации функций. Электронная микроскопия и споттинг анализ полученных мутантов позволили обнаружить, что Bgl2p ответственен за образование материнского рубца на клеточной стенке после деления клеток, необходим дрожжам для выживания в экстремальных условиях, таких как высокая температура и длительное высушивание, а также играет важную роль в ограничении репродуктивной жизни клеток в процессе старения культуры. Сравнительный анализ

белкового состава клеточных стенок полученных штаммов с использованием метода избирательно биотинилирования гликопротеинов клеточной поверхности дрожжей позволил выявить, что Vgl2p участвует во встраивании GPI-белков клеточной стенки дрожжей. Физико-химический анализ конформационных особенностей изолированного из клеточных стенок белка Vgl2p в сочетании с иммуно-флуоресцентной и электронной микроскопией показал, что данный фермент способен формировать фибриллярные структуры амилоидного типа, которые могут играть структурную функцию в клеточной стенке. Обнаружение в составе клеточных стенок дрожжей белка, обладающего такими свойствами, помимо несомненного научного интереса имеет и практическую значимость, поскольку позволяет прогнозировать нежелательные побочные эффекты при использовании дрожжей в фармакологической и пищевой промышленности.

Работа поддержана грантом РФФИ 10-04-01821-а. Автор благодарит своих научных руководителей чл.-корр. РАН Кулаева И.С. и профессора д.б.н. Калебину Т.С. за всестороннюю поддержку и научное руководство.

Колокализация протоонкогенов на поверхности ядрышка как следствие ингибирования ДНК-топоизомеразы II

Рубцов Михаил Александрович¹, Разин С.В.^{1,2}, Яровая О.В.²

¹ Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, ²Институт биологии гена РАН, Россия, Москва, ma_rubtsov@mail.ru

Гены *AML1* и *ETO* человека являются известными генами-партнерами по хромосомной транслокации t(8,21), ассоциированной с развитием так называемых «обусловленных лечением» (treatment-related) или «вторичных» лейкозов у пациентов, перенесших химиотерапию с применением ингибиторов ДНК-топоизомеразы II (топоизомеразных ядов). Для лучшего понимания механизмов образования транслокации t(8,21) мы проанализировали взаимную пространственную локализацию генов *AML1* и *ETO* в трехмерном пространстве ядра с использованием культуры клеток человека лимфоидной природы (линия Jurkat). Проведя трехмерную флуоресцентную гибридную *in situ* (3D FISH) с последующей реконструкцией и анализом трехмерных изображений мы показали, что в случае контрольных клеток аллели *AML1* и *ETO* находятся в непосредственной пространственной близости друг от друга с 5%-ой вероятностью. В то время как в клетках, обработанных ингибитором ДНК-топоизомеразы II этопозидом, вероятность колокализации генов *AML1* и *ETO* увеличивается в два раза. Причем более чем в половине случаев колокализация флуоресцентных сигналов, соответствующих генам *AML1* и *ETO*, наблюдается на поверхности ядрышка. Возможная роль ядрышка в сближении концов двухцепочечных разрывов ДНК пока не ясна, хотя результаты более ранних экспериментов свидетельствуют об участии этого многофункционального ядерного компартмента в репарации ДНК.

Кроме того мы показали, что обработка клеток Jurkat этопозидом вызывает увеличение связывания белка Rad51 с кластерами точек разрыва (breakpoint cluster regions, bcr) внутри генов *AML1* и *ETO*. Полученные результаты свидетельствуют о том, что репарация повреждений, вносимых в ДНК топоизомеразными ядами, может осуществляться посредством нескольких механизмов, что, в свою очередь, может обуславливать возникновение ошибок, приводящих к хромосомным транслокациям.

Работа выполнена при частичном финансировании из средств ГК П1339 (Министерство образования и науки Российской Федерации), грантов 10-04-00305-а и 09-04-93105-НЦНИЛ_а (РФФИ), гранта компании Carl Zeiss и Гранта Президента РФ (МК-222.2011.4).

Получение, кристаллизация и определение структуры полноразмерного L1-выступа бактериальных рибосом

Сарских Алена Витальевна, Костарева О.С., Михайлина А.О., Никонова Е.Ю.
(Учреждение Российской академии наук Институт белка РАН, Россия, Пуццино, carckih@rambler.ru)

L1-выступ рибосомы участвует в высвобождении деацелированной тРНК из E-сайта. Он образован рибосомным белком L1 и специфическим фрагментом 23S рРНК. Из-за высокой подвижности L1-выступа его структуру в течение длительного времени не удалось определить в составе интактных рибосомных частиц. В моделях рибосом использовалась полученная ранее в нашей лаборатории структура гибридного комплекса, образованного архейным белком L1 и укороченным фрагментом бактериальной рРНК длиной 55 нуклеотидов из *Thermus thermophilus*, содержащим спирали 76 и 77. Белок L1 является также белком-регулятором, он связывается со специфическим участком на мРНК и осуществляет регуляцию собственного синтеза и синтеза белков, находящихся в том же опероне, по принципу «обратной связи». Для того чтобы определить принципы регуляции синтеза рибосомных белков, необходим детальный сравнительный структурный анализ рибосомного и регуляторного комплексов белков-регуляторов. Ранее в нашей лаборатории была определена структура комплекса бактериального белка L1 из *T. thermophilus* (TthL1) со специфическим фрагментом мРНК с разрешением 2.1 Å.

Целью нашей работы является уточнение структуры полноразмерного L1-выступа бактериальной рибосомы с высоким разрешением и детальный сравнительный анализ взаимодействий белка TthL1 со специфическими фрагментами мРНК и рРНК. Для получения полного фрагмента бактериальной рРНК мы клонировали ген фрагмента 23S рРНК длиной 80 нуклеотидов, содержащий спирали 76, 77 и 78. Данный фрагмент рРНК был наработан транскрипцией *in vitro* с использованием T7 РНК-полимеразы и очищен методом электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях.

Мы получили кристаллы гомологического бактериального комплекса белка TthL1 с таким длинным фрагментом рРНК, которые успешно использовались для сбора дифракционных данных. Структура комплекса была определена методом молекулярного замещения с высоким разрешением - 2 Å. Показано наличие дополнительных водородных связей, образованных нуклеотидами 78 спирали 23S рРНК и аминокислотными остатками α 1 спирали TthL1, которая присутствует лишь у белка L1 из бактерий.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 10-04-00618) и Программы МКБ РАН.

Экспрессия генов субъединицы В сукцинатдегидрогеназы в прорастающих семенах кукурузы

Селиванова Наталья Владимировна, Федорин Д.Н., Ву Л.Т., Махмуд А.С.
(Воронежский госуниверситет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Воронеж, kir2202@yandex.ru)

Сукцинатдегидрогеназа (СДГ, КФ 1.3.99.1) является важнейшим регулятором метаболических путей, поэтому вопрос ее функционирования детально исследуется. Генетическая детерминация СДГ в геномах высших растений характеризуется наличием полигенного семейства. Ранее нами было показано, что экспрессия генов субъединицы А СДГ в проростках кукурузы неоднородна, в связи с этим, целью данной работы явилось изучение экспрессии генов, кодирующих субъединицу В сукцинатдегидрогеназы.

В качестве объектов исследования использовали семена кукурузы *Zea mays* L. сорта Воронежская 76. Полимеразную цепную реакцию в реальном времени проводили на приборе Bio-Rad Chromo 4 (Bio-Rad, США), используя в качестве красителя SYBR Green I, расчет уровня экспрессии генов проводили по методу $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Показано, что уровень транскрипции генов *sdh2-1*, *sdh2-2* и *sdh2-3* изменяется по мере развития проростка. Установлено, что ген *sdh2-3* активно экспрессируется в течение всего периода прорастания семян, тогда как гены *sdh2-1* и *sdh2-2* интенсивно транскрибируются только в сухих семенах. Профили экспрессии генов *sdh2-1* и *sdh2-2* имеют сходное

проявление с генами ферментов, вовлеченных в глюконеогенез, что позволяет предположить роль генов *sdh2-1* и *sdh2-2* в организации метаболической программы, позволяющей мобилизовать запасные вещества. Однако установлено, что ген *sdh2-3* активно экспрессируется в течение всего периода прорастания семян. Вероятно, продукт данного гена принимает участие в энергетическом метаболизме клетки на уровне ЦТК и ЭТЦ митохондрий. Полученные результаты позволяют предположить, что при прорастании комплекс II, содержащий в своем составе субъединицу В, кодируемую генами *sdh2-1* или *sdh2-2*, постепенно замещается на комплекс II, который включает субъединицу гена *sdh2-3*, обеспечивающего высокую скорость функционирования дыхания на ранних стадиях развития семян.

Таким образом, обнаружена дифференциальная экспрессия генов субъединицы В СДГ при прорастании семян, обусловленная полифункциональностью исследуемой ферментной системы, которая обеспечивает протекание различных метаболических процессов в онтогенезе растений.

Экспрессия гена *CTCF* кур в клетках млекопитающих

Сорокина Ирина Владимировна, Котова Е.С., Акопов С.Б., Николаев Л.Г.

(Институт Биоорганической Химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Россия, Москва, atem2610@mail.ru)

Белок CTCF – многофункциональный, высоко консервативный транскрипционный фактор позвоночных. Благодаря способности взаимодействовать с разнообразными регуляторными элементами генома, он представляет большой интерес для исследователей. При получении белков позвоночных в клетках прокариот и беспозвоночных существует вероятность неправильной укладки полипептидной цепи и отсутствия характерных для них посттрансляционных модификаций.

Мы ставили своей целью разработать простой и быстрый способ получения и очистки куриного CTCF синтезированного в клетках позвоночных.

С этой целью в вектор рНс, предназначенный для суперэкспрессии гена куриного CTCF в клетках млекопитающих, была введена последовательность, кодирующая гистидиновый таг, состоящий из шести аминокислотных остатков гистидина. Методом Вестерн-блот анализа клеточных лизатов проводилось сравнение количества белка CTCF в клетках, трансфицированных полученной конструкцией – рНс-his – и интактных. Было показано, что в трансфицированных клетках синтезируется белок CTCF с гистидиновым тагом, количество которого значительно превосходит количество эндогенного CTCF. Проводился функциональный анализ белка CTCF с гистидиновым тагом методом сдвига электрофоретической подвижности в полиакриламидном геле. Было показано, что рекомбинантный белок способен специфически узнавать те же последовательности ДНК, что и нативный, а также что он локализуется в ядре. Была проведена очистка белка CTCF с гистидиновым тагом из клеточного лизата с помощью металлофинной хроматографии на колонках с иммобилизованными ионами никеля, а затем – анионообменной хроматографии на Q-сефарозе.

Был получен белок CTCF с гистидиновым тагом в клетках Cos-1, трансфицированных конструкцией рНс-his. Было показано специфическое узнавание им последовательностей ДНК *in vitro* и ядерная локализация этого белка. Получены фракции, обогащенные белком CTCF.

Взаимодействие фактора транскрипции TngA с регуляторным белком GlnK и глутаминсинтетазой

Федорова Ксения Павловна¹, Каюмов А.Р.^{1,2}

(¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, ²Казанский государственный архитектурно-строительный университет, Россия, Казань, ksunchik@mail.ru)

В клетках *Bacillus subtilis* фактор транскрипции TngA контролирует экспрессию множества генов в условиях недостатка источника азота и в активном состоянии связан с мембраной посредством белков GlnK-AmtB. Белок TngA имеет два функциональных домена:

N-концевой домен необходим для связывания с ДНК, а для С-концевого домена показано взаимодействие с глутаминсинтетазой (GS). Мы предположили, что С-конец также участвует во взаимодействии с белком GlnK. Целью работы было установить роль С-концевого домена белка TngA во взаимодействии с белками GlnK и GS.

На основе вектора pET15b были получены плазмиды для гиперпродукции белков TngA с 6-гистидиновым тагом на N-конце и делециями С-конца на 6, 20 и 35 аминокислот (TngA6, TngA20, TngA35) в клетках *E.coli* BL21. Плазмиды для гиперпродукции белков GlnK и GS со стреп-тагом были предоставлены проф. Форшхаммером, университет Тюбингена, Германия. Белки TngA, GlnK и GS были очищены до электрофоретической гомогенности. Взаимодействие нативного и мутантных белков TngA с GlnK и GS исследовали *in vitro* методом «pull down» на стреп-тактин сефарозе и Ni-NTA агарозе. Эксперименты показали, что делеция С-конца на 6 аминокислот делает невозможным связывание белка TngA с GS. В то же время, лишь делеция 35 аминокислот приводила к отсутствию взаимодействия с белком GlnK. Вероятно, сайт взаимодействия с белком GlnK локализован между 20 и 35 аминокислотами с С-конца фактора TngA. Таким образом, С-конец фактора TngA необходим для взаимодействия с GlnK и GS, сайты для связывания с этими белками расположены близко друг к другу, но не перекрываются. Вероятно, образование комплексов с регуляторными белками является механизмом контроля активности фактора TngA.

Автор выражает признательность профессору, д.б.н. Ильинской О.Н. за помощь в проведении экспериментов и подготовке тезисов. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (ГК 1275П от 09.06.2010).

1A2- и Wari-инсуляторы взаимодействуют с промоторами генов *yellow* и *white D. melanogaster*

Четверина Дарья Александровна

(Учреждение Российской Академии Наук Институт Биологии гена РАН, Россия, Москва, dchetverina@yandex.ru)

Инсуляторы – специализированные регуляторные элементы, участвующие в модуляции взаимодействий между энхансерами и промоторами. Несмотря на большое количество исследований, роль инсуляторов в регуляции транскрипции *in vivo* остается слабо изученной. Ранее было обнаружено, что непосредственно с 3'-стороны от генов *yellow* и *white* дрозодилы располагаются инсуляторы 1A2 и Wari, соответственно. В данной работе было протестировано наличие функциональных взаимодействий инсуляторов с промоторами генов-мишеней.

Способность инсуляторов взаимодействовать с промоторами генов была протестирована *in vivo* с использованием модельной трансгенной системы, основанной на неспособности GAL4-активатора дрожжей стимулировать транскрипцию на дальнем расстоянии.

В результате было показано, что 1A2- и Wari-инсуляторы способны взаимодействовать с промоторами генов *yellow* и *white*, соответственно, формируя «генные петли». Показано, что 5'-регуляторные области данных генов, необходимые для взаимодействия с энхансерами, не играют роли во взаимодействии с инсуляторами. Исследована специфичность взаимодействующих инсулятор-промоторных пар. Кроме того, делеция Wari-инсулятора за геном *white* приводит к значительному снижению транскрипции гена *white*, что свидетельствует о способности инсуляторов поддерживать базовый уровень транскрипции генов.

Мы предполагаем, что взаимодействие инсуляторов с промоторами генов играет важную роль в регуляции транскрипции.

Данное исследование было проведено при поддержке РФФИ (грант № 09-04-00903-а), гранта Президента РФ МК-3421.2011.4. Автор выражает благодарность академику Георгиеву П.Г. за руководство и помощь в проведении экспериментов.

Моделирование физической адсорбции РНКаз на плазматическую мембрану

Ширишков Фёдор Владимирович

(Казанский (Приволжский) федеральный университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Казань, shirshikov-fedor@ya.ru)

Проявление биологической активности экзогенных ферментов на клеточном уровне во многом зависит от их способности взаимодействовать с поверхностью клетки, которая определяется совокупностью физико-химических свойств молекул фермента и свойствами плазматической мембраны.

Объектами настоящего исследования являются РНКазы, обладающие цитотоксическим действием и другими биологическими эффектами.

Целью работы являлось сравнение физической адсорбции РНКазы А и РНКазы *Bacillus intermedius* (РНКазы Вi) на отрицательно заряженную поверхность слюды с помощью метода атомно-силовой микроскопии. Процесс моделировал взаимодействие РНКаз с плазматической мембраной в физиологических условиях. Гидрофобные свойства РНКаз оценивали методом построения профиля гидрофобности, который позволяет определить на белке участки, потенциально способные участвовать в гидрофобных взаимодействиях с липидным бислоем.

Анализ АСМ-изображений слюды с адсорбированными на ней РНКазами и кинетики адсорбции препаратов показал, что РНКазы Вi адсорбировались в 3-4 раза эффективнее, чем РНКазы А. Адсорбция РНКазы Вi на слюде сопровождалась димеризацией и агрегацией молекул фермента. Обсуждается зависимость эффективности взаимодействия РНКаз с отрицательно заряженной поверхностью от распределения суммарного заряда на белковой молекуле.

Сравнение профилей гидрофобности РНКаз свидетельствует о том, что РНКазы Вi обладает более выраженными гидрофобными свойствами по сравнению с РНКазой А.

Полученные в настоящей работе результаты позволяют оценить различия в биологических эффектах РНКаз с позиции их взаимодействия с поверхностью клетки.

Работа выполнена при поддержке федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы, Гос. Контракт № 02.740.11.0391. Выражаю огромную благодарность моему научному руководителю с.н.с. Качачевой Наталье Васильевне, а также доц. Коноваловой Ольге Анатольевне за помощь в проведенной работе.

Cancer-derived p53 mutants suppress p53-target gene expression – potential mechanism for gain of function of mutant p53

Kanarsky Eugene

(National university of life and environmental sciences of Ukraine, Ukraine, Kiev, Johnny.Kanarsky@gmail.com)

Tumour-derived p53 mutants are thought to have acquired “gain-of-function” properties that contribute to oncogenicity. The p53 suppressor gene is mutated in ~ 50% of all human cancers.

All p53 mutant and wild-type p53 plasmids were generated. The following p53-target gene promoter-reporter constructs were used in study: p21-luciferase (luc), gadd45-luc, p53AIP-1-luc, Bax-luc, Igfbp3-luc, p53R2-luc, cyclinG1-luc and hTert-luc. p21-promoter deletion constructs 0-luc, 2-luc and 4-luc. HUH-7 and T47D cells were co-transfected with 1µg pCDNA and 10µg of pSuper-based plasmid containing oligonucleotide sequences for silencing p53. Total RNA was prepared from cells using TRIZOL Reagent (Invitrogen) as per manufacturer's instructions.

Since silencing of mutant p53 expression led to the induction of p53-target genes involved in growth arrest and apoptosis, was evaluated if knock-down of endogenous mutant p53 expression would also affect cellular growth. Was silenced p53 expression in HUH-7 cells which harbours the A220G mutation in p53 and in T47D cells that carry the C194T mutation, and where silencing led to increased expression of p53-target genes. Absence of any transfection and subsequent selection resulted in no surviving colonies, confirming the efficacy of the selection procedure. Enumeration of cellular colonies indicated that there was a significant decrease in the number of colonies upon

silencing of *p53* expression (HUH-7—control versus *p53* siRNA: 407 versus 133; P = 0.0073 and T47D—control versus *p53* siRNA: 406 versus 103; P = 0.0133).

The results presented here propose another mechanism through which mutant *p53* may contribute to unregulated cellular growth and oncogenesis. Together with the recent reports the presence of the overexpressed mutant *p53* in tumour cells may be a good therapeutic target for clinical intervention.

Interactions between HIV-1 Nef and ABCA1 cholesterol transporter
Sheveleva Daria¹, Jeannelle L.²

(¹Department of Molecular Biology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia, ²The George Washington University, Department of Microbiology, Immunology and Tropical Medicine, USA, DC, Washington, dariasheveleva@gmail.com, mtmltj@gwumc.edu)

Nef is an accessory protein of HIV-1 which is crucial for viral infectivity and pathogenesis. It undergoes N-terminal myristoylation for attaching to the membrane. Nef is shown to downregulate the function of ABCA1 cholesterol transporter. In our studies, we use *NEF* gene derived from the pNL4-3 cell-line adapted clone. We have compared the wild type Nef and its mutant form G2A, deficient in myristoylation, in their ability to decrease the presence of ABCA1. Co-expression of wild type Nef and ABCA1 led to a significant decrease in ABCA1 abundance revealed by Western-blotting analysis. Interestingly, co-expression of G2A mutant also had a decreasing effect on ABCA1 presence, contrary to previous results with other Nef alleles. Both wild-type and G2A Nef proteins were then tested for co-immunoprecipitation with FLAG-tagged ABCA1, using anti-FLAG affinity gel. In previous studies, it was shown that G2A mutation destroys the ability of some Nef alleles to co-immunoprecipitate with ABCA1. In our studies, G2A mutant of the pNL4-3 allele was detected in co-immunoprecipitation with ABCA1, though at lower levels than wild-type Nef. Another remarkable feature of Nef pNL4-3 allele is its ability to co-immunoprecipitate efficiently with the C-terminally truncated ABCA1Δ40 mutant, in contrast to Nef from the SF2 HIV-1 isolate. These data indicate that myristoylation of pNL4-3 Nef is not required for decreasing ABCA1 abundance. Myristoylation promotes, but is not crucial for, co-immunoprecipitation of Nef with ABCA1. Apparently, the way Nef interacts with ABCA1, and especially the role of myristoylation in this process, is strongly dependent on the allele of Nef.

We thank Dr. T.S.Kalebina and Dr. M.I.Bukrinsky for supervising our work and Dr. T.A.Plotnikova for participation in discussion.

The work was funded by the grant 10-04-01821-a from Russian Foundation of Basic Research and the grant for the USA-Russia educational program “Training Leaders in 21st Century Biotechnology” P116S090023.

ПОДСЕКЦИЯ «НЕЙРОФИЗИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ ВВД»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Динамика внутриклеточного кальциевого сигнала в условиях воздействия агонистов рецепторов глутамата в первичной культуре нейронов коры мозга *Абушик Полина Александровна*

(Санкт-Петербургский политехнический университет, факультет Медицинской физики и Биоинженерии, Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Россия Санкт-Петербург, polinaabushik@gmail.com)

Известно, что нейротоксическое действие глутамата реализуется через рецепторы NMDA-типа, каналы которых обладают высокой проводимостью для ионов кальция, и рецепторы AMPA-типа. В моем исследовании сопоставляются динамики Ca^{2+} сигналов в условиях действия NMDA (N-метил-D-аспартата), KA (каианта, агониста AMPA рецепторов), и механизмы лежащие в основе их различий.

Эксперименты проводили на первичной культуре нейронов коры головного мозга крыс. Мониторинг кальциевого сигнала осуществляли с использованием флуоресцентного зонда *Fluo-3* на конфокальном микроскопе *Leica SP5 MF*.

При длительной активации рецепторов глутамата 30 мкМ NMDA и 30 мкМ KA наблюдался значительный рост интенсивности флуоресценции. Обнаружено, что при активации NMDA рецепторов Ca^{2+} сигнал нарастал быстро и достигал стационарного уровня. В случае AMPA рецепторов флуоресценция возрастала медленно, и тот же уровень достигался за 30 минут. Аппликация агонистов в бескальциевом растворе не вызывала усиления флуоресценции, однако добавление наружного Ca^{2+} запускало внутриклеточный Ca^{2+} ответ за счет входа внеклеточного Ca^{2+} через каналы плазматической мембраны. Для идентификации механизмов в опытах использовали ИЭМ-1460, который блокирует каналы AMPA-рецепторов, не содержащих GluR2 субъединицу, определяющую проницаемость для Ca^{2+} , и нифедипин - блокатор потенциал-чувствительных Ca^{2+} каналов L-типа. Поскольку нифедипин ингибировал Ca^{2+} сигнал в большинстве нейронов, L-тип Ca^{2+} каналов участвует в генерации сигнала. Показано также, что динамика Ca^{2+} ответа в различных нейронах при действии KA зависит от субъединичного состава AMPA-рецепторов и бывает трех типов, характерных для вставочных нейронов (имеют Ca^{2+} -проницаемые AMPA рецепторы), пирамидных нейронов (экспрессируют AMPA рецепторы, содержащие GluR2) и нейронов промежуточного типа (имеют оба вида рецепторов). Таким образом, была обнаружена гетерогенность популяции нейронов в первичной культуре, характерная для коры взрослых животных.

Работа поддержана грантом РФФИ № 08-04-00423, руководитель д.б.н. Антонов С.М.

Движения глаз при чтении предложений с синтаксической неоднозначностью в русском языке

Анисимов Виктор Николаевич

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет Россия, Москва, victor_anisimov@neurobiology.ru)

Параметры движений глаз при чтении (длительности фиксации, величины саккад, количество регрессий) могут быть использованы для оценки когнитивных процессов при чтении. В рамках проведенного исследования разработали новый подход для анализа определенного типа синтаксической конструкции русского языка - конструкции с локальной и глобальной синтаксической неоднозначностью (например, «Преступник застрелил служанку актрисы, которая стояла на балконе» vs. «Преступник застрелил слугу актрисы, которая стояла на балконе»).

В экспериментах испытуемые (14 студентов МГУ) читали 40 тестовых предложений (Т), содержащих синтаксическую неоднозначность, и 40 контрольных предложений (К) без неоднозначности. Предложения предъявлялись на экране монитора, располагаемом в 45 см от глаз испытуемого. Строка, содержащая синтаксическую неоднозначность, состояла из 25-

27 символов, ее длина составляла 35 см. Положение зрака определялось методом видеоокулографии (250 Гц). Анализировали различия параметров движений глаз при чтении 2-й строки, содержащей неоднозначность (в Т) и не содержащей неоднозначность (в К).

У всех испытуемых время чтения 2-й строки в Т превышало аналогичный параметр при чтении 2-й строки в К. Увеличение времени чтения происходило из-за увеличения числа фиксаций, их длительности, а также числа регрессивных саккад при чтении Т по сравнению с К. Регрессивные саккады (смещение зрака влево) испытуемые совершали для повторного чтения фрагмента, вызвавшего какие-либо затруднения. При повторном чтении (после регрессивной саккады) 2-й строки как в Т, так и в К длительности фиксаций оказались меньше, чем при первом чтении.

Мы выполнили первое в отечественной научной практике исследование влияния трудностей в русском языке на параметры движений глаз. Ценность работы состоит в том, что анализируемые психофизиологические показатели, сопровождающие когнитивную деятельность, специфическим образом отражают успешность ее выполнения.

Оценка влияния хронической алкоголизации на поведенческие характеристики в открытом поле с учетом индивидуально-типологических особенностей

Бобровская Анна Викторовна, Мальцева Е.С.

(Донецкий национальный университет, Украина, Донецк, annetlustig@rambler.ru)

Большое количество работ, посвященных изучению действия этанола на организм, связано со значительным ростом психоэмоциональных нарушений, вызванных употреблением избыточных доз алкоголя. Одним из вопросов, который нуждается в уточнении является вопрос индивидуальной чувствительности к действию этанола. Целью представленного фрагмента комплексной работы является установление особенностей индивидуальной чувствительности к хроническому действию этанола в условиях открытого поля. Эксперимент был выполнен на 40 крысах-самцах весом 180 ± 15 г., содержащихся в стандартных условиях вивария. Хроническую алкоголизацию (ХА) моделировали 14-дневным в/бр введением 10%-го раствора этилового спирта в расчете 2 мл/кг. Влияние этанола изучали в стандартных условиях открытого поля (ОП). Первичные экспериментальные данные обрабатывались с помощью общепринятых методов математической статистики с помощью пакета программ STATISTIKA 6.0 и Excel. Выявлено, что уровень двигательной активности (ДА) в подгруппах с низким и средним уровнями исследовательской активности (ИА) достоверно не отличались между собой; у высокоактивных животных этот показатель был максимальным. Кроме того, высокоактивные животные оказались более эмоциональными, чем другие крысы (большее количество фекальных болосов). Установлено, что на первой минуте тестирования животного демонстрируют максимальные проявления разных форм поведения, не в зависимости от исходного уровня ИА. Выявлено, что ХА не повлияла на суммарный уровень ИА низкоактивных животных. Двигательная активность, напротив, снизила почти вдвое ($p_u < 0,05$). У средне- и высокоактивных животных проявления ИА снизились в среднем на 32-41% ($p_u < 0,05$) относительно показателей контроля. Однако, ДА крыс со средним уровнем активности не изменилась относительно контрольных значений, в то время, как ДА высокоактивных крыс совпала с результатами, полученными в подгруппе с низким уровнем активности. В подгруппах животных с крайними уровнями ИА (низким и высоким) обнаружены противоположные по направленности изменения эмоциональности: у низкоактивных – повышение ($p_u < 0,05$), в высокоактивных – снижение ($p_u < 0,05$). Таким образом, можно сделать вывод, относительно хронического действия этанола чувствительными являются только особи со средним и высоким уровнями исследовательской активности.

Изучение нейрофизиологических механизмов, определяющих структуру решения примеров с двузначными числами

Богун Анна Сергеевна

(Южный федеральный университет, Россия, Ростов-на-Дону, a_bogun@mail.ru)

Несмотря на то, что в настоящее время большое внимание уделяется выявлению структуры арифметических задач, анализ процесса решения ввиду сложности поиска его коррелятов часто отсутствует. В нашем исследовании сделана попытка выделения этапов решения. Целью была оценка динамики и количества произвольных операций при решении примеров на сложение и умножение. Обследовано 19 правшей (возраст 24 года). Методика заключалась в решении примеров на сложение и умножение двузначных чисел. Помимо решения, в задачу входило отмечать выполнение каждой арифметической операции нажатием на кнопку. Рассчитывалось время (ВРеш) и качество решения (достоверность оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента) и ЭЭГ для обоих блоков примеров. Большая часть примеров на сложение решалась в 2 и 3 этапа; решение в 1 и 4 этапа встречались редко. При умножении доминировали примеры, решаемые в 3 и 4 операции с небольшой вероятностью ошибки (высокой в сравнении со сложением). Примеры в 1 и 5 этапов решались редко с максимальной долей ошибок. Вероятно, большая часть примеров, решаемых в одинаковое число операций, связана с задействованием стандартного алгоритма. ВРеш на сложение укорачивалось при уменьшении числа операций. Анализ динамики операций внутри примера показал наибольшую длительность 1 операции для обоих блоков. С увеличением числа этапов при сложении 1 этап сокращался одновременно с удлинением второго; при умножении появление промежуточных стадий приводило к укорочению этапов. В ЭЭГ при сложении решение в неоптимальное число операций (1 и 4) и пропуски сопровождались высокими значениями мощности дельта- и тета-ритмов с локализацией фокусов в левых лобной и теменно-височной областях и правой височной зоне. Для оптимального количества этапов мощность ритмов была меньше. Это показано и для умножения, где выраженность ритмов была выше с распространением активации в правые лобные зоны. Таким образом, метод субъективного разделения арифметических операций подтверждает предположение о неоднородной структуре решения, зависящей от индивидуального уровня навыка.

Анализ поведения мышей, селектированных на когнитивный признак

Голиброва Василиса Антоновна

(Московский Государственный Университет имени М. В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, Vasilisa2006@gmail.com)

К когнитивным способностям животных относят формирование пространственных представлений и решение элементарных логических задач. У лабораторных грызунов суммарная доля правильных решений теста на экстраполяцию не отличается от 50% случайного уровня, хотя у мышей отдельных групп эта доля бывает достоверно выше 50%. Таким образом, в изменчивости способности к экстраполяции присутствует генетический компонент, который может позволить провести селекцию на высокие показатели этого признака. Начат эксперимент по селекции мышей (линия ЭКС) на высокие показатели решения этого теста, где критериями отбора, наряду с высокими показателями решения этого теста, является еще и низкий уровень проявлений страха при тестировании. Мыши исходной гетерогенной популяции (Ко-ЭКС), разводившиеся рандомбредно, были контролем. Приводятся данные по поведению мышей F6. В двух сериях экспериментов доля правильных решений теста у мышей ЭКС не отличалась от 50% и не отличалась от показателей контрольной группы. У мышей ЭКС показатели тревожности, полученные в независимом тесте приподнятого крестообразного лабиринта, были ниже (больше время, проведенное в светлых рукавах, число выходов в светлые рукава и «свешиваний»); достоверно в 1-м эксперименте, число эпизодов груминга - ниже), чем у Ко-ЭКС. В тесте «открытое поле» сравнивали поведение мышей в «фоне» и при предъявлении незнакомого предмета. Общий уровень локомоторной активности, число контактов мыши с новым предметом, а также число стоек и заглядываний в «норки» были достоверно выше у мышей

селектируемой линии, по сравнению с контролем. Это свидетельствует о более высокой исследовательской активности мышей линии ЭКС.

Таким образом, на ранних этапах селекции на когнитивный признак (с одновременным отбором против проявлений тревожности) проявление данного признака не увеличилось, однако селекция снизила тревожность и усилила исследовательскую активность. Это свидетельствует о сложном характере генетического определения способности к решению элементарной логической задачи.

Данные частично поддержаны грантом РФФИ (№10-04-00891).

Влияние изменения дофаминергической трансмиссии на показатели тревожного поведения в условиях хронической алкоголизации

Занужляк Ольга Сергеевна, Бачурина А.С.

(Донецкий национальный университет, Украина, Донецк, zipluk@gmail.com)

Невзирая на достаточно широкий спектр исследований в области влияния алкоголя на психоэмоциональные показатели личности, открытым остается вопрос относительно адекватных методов коррекции этих нарушений. Целью проведенного исследования было установление эффективности изменения дофаминергической трансмиссии умеренным антидепрессантом сульпиридом при тревожных расстройствах, вызванных хронической алкоголизацией (ХА) с учетом индивидуально-типологических особенностей. Эксперимент был выполнен на 40 крысах-самцах массой 190±10 г. Уровень тревожности устанавливали с помощью стандартной методики преподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ). ХА происходила путем в/бр введения 10%-го раствора этилового спирта в расчете 2 мл/кг, после чего крысы проходили повторное тестирование в ПКЛ; изменение дофаминергической трансмиссии – 3-х дневным в/бр введением сульпирида в дозе 1 мг/кг. По окончании трех дней крыс тестировали повторно. Первичные экспериментальные данные обрабатывались общепринятыми методами математической статистики с помощью пакета программ STATISTIKA 6.0 и Excel. В результате проведенного исследования установлено, что ХА вызывала увеличение тревожности в подгруппе крыс с низким уровнем тревожности на 62,9±9,18% ($p_a < 0,01$). Кроме того, наблюдалось достоверное уменьшение количества стоек ($p_a < 0,05$). Сульпирид не повлиял на показатели тревожности крыс этой подгруппы. Подгруппы животных с исходным высоким и средним уровнями тревожности реагировали на избранные влияния одинаково – ХА не повлияла на тревожность в ПКЛ, а сульпирид оказал анксиолитический эффект: пребывания на открытом пространстве у животных с высокой тревожностью в контроле увеличилось в 2,4 раза относительно показателей ХА ($p_a < 0,05$), со средней – в 1,78 раза ($p_a < 0,05$). Количество повторных выходов на открытое пространство у среднетревожных крыс на фоне алкоголизации уменьшилось ($p_a < 0,05$), а под воздействием сульпирида повысилось до исходного уровня ($p_a < 0,05$). Так же изменялись показатели переходов между закрытыми рукавами в этой подгруппе. Однако, количество выглядываний из закрытых рукавов, которую авторы относят к прямому показателю тревожности, также увеличивалось в результате стимуляции активности дофаминергической системы. Животные с высоким уровнем тревожности в контроле выявили увеличение количества повторных выходов на открытое пространство ($p_a < 0,05$) под воздействием сульпирида, что подтверждает анксиолитическое действие активации дофаминовой трансмиссии.

Долговременные нарушения когнитивных функций у крыс, перенёвших однократный эпилептический статус, вызванный введением пентилентетразола

Иванова-Дятлова Александра Юрьевна, Аниол В.А.

(Институт Высшей Нервной Деятельности и Нейрофизиологии РАН, Россия, Москва, i.d.alexandra@gmail.com)

Эпилепсия – одно из наиболее распространённых неврологических заболеваний в мире, часто не поддающееся фармакологической коррекции и имеющее неясную этиологию. Эпилепсия нередко сопровождается нарушениями когнитивных функций, при этом механизмы возникновения когнитивных нарушений, вызванных судорожной активностью,

остаются неясными. В связи с этим исследование когнитивных функций у крыс после экспериментальной судорожной активности представляется актуальной задачей.

Судорожную активность моделировали однократным введением химического конвульсанта пентилентетразола (ПТЗ) самцам крыс линии Вистар (n=22). Части животных (n=10) внутривентрикулярно вводили ПТЗ в дозе 70 мг/кг, что приводило к развитию генерализованных тонико-клонических судорог; животным контрольной группы (n=12) вводили физраствор. В период 10 дней – 3 месяца после судорог проводили серию поведенческих тестов для оценки обучения и памяти у крыс (распознавание нового объекта, социальное узнавание, обучение в восьмирукавном лабиринте, выработка условной реакции активного избегания). Предварительно в приподнятом крестообразном лабиринте сравнивали активность и уровень тревожности животных.

Через 10 дней после перенесенной судорожной активности не было обнаружено достоверных различий между группами в задаче распознавания нового объекта, тогда как через 10 недель крысы, перенесшие судороги, демонстрировали ухудшение когнитивных функций в этом тесте по сравнению с контрольными животными. Кроме того, снижение когнитивных функций в период от 3 недель до 3 месяцев после судорог было также продемонстрировано при обучении в восьмирукавном лабиринте, в тесте социального узнавания и при выработке условной реакции активного избегания.

Таким образом, обнаружено, что однократный эпизод генерализованных клонико-тонических судорог, вызванных введением ПТЗ, приводит к развитию долговременных когнитивных нарушений у крыс. Установление этого феномена позволяет в дальнейших исследованиях изучить механизм возникновения и поддержания таких нарушений.

Поддержано грантом ФЦП.

Модель детской эпилепсии на примере развивающихся крыс.

Калинина Дарья Сергеевна

(СПбГУ, Россия, Санкт-Петербург, driada09@mail.ru)

Эпилептическое и судорожное проявления часто встречаются в нейропатологии детского возраста, но механизмы их возникновения изучены недостаточно. Поскольку большинство экспериментальных моделей (например, крысы с генетической предрасположенностью) позволяют исследовать механизмы генерации пароксизмальной активности у взрослых животных, целью данного исследования являлась разработка модели детской эпилепсии на примере развивающихся крыс первых 3-4 недель жизни, что поможет определить критические сроки и причины возникновения эпилепсии в детском возрасте, а так же установить поэтапное развитие эпилептиформной активности в онтогенезе.

В хроническом эксперименте на крысах в возрасте от 30 до 50 дней жизни для регистрации ЭКоГ проводили вживление двух симметричных блоков по 4 стальных электрода в каждом (сопротивление 20-50 кОм, длина блока 5 мм) в область фронтального и теменного неокортекса билатерально на глубину до 1,5 мм. Эпилептическое патологическое состояние мозга провоцировалось микроинъекциями блокатора калиевых каналов 4-аминопиридина (4-АП) в дозировке от 1,0 до 2,5 мкл 25 мкМ раствора 1-2 раза в течение одного эксперимента.

Результаты экспериментов показали, что средняя частота вызванных эпилептических разрядов на протяжении эпизодов составила $9,3 \pm 0,7$ Гц, что близко к соответствующим частотам, регистрируемым у крыс с генетической предрасположенностью к эпилепсии.

Показано, что количество приступов в течение одного эксперимента изменяется от 3-4 эпизодов у четырехнедельных и до 40 у шестинедельных крысят. Также варьируют в зависимости от возраста и поведенческие реакции. В возрасте 5-6 недель инъекция 4-АП вызывала локальные мышечные судороги контралатеральной передней лапы, распространяющиеся затем на обе конечности, при увеличении дозы вещества в 2-3 раза иногда наблюдались генерализованные судороги и высокие прыжки. Т.о. выявлено, что продолжительность и амплитуда патологической пик-волновой активности, регистрируемой на ЭКоГ после микроинъекции 4-АП, а также поведение животного, коррелирует с возрастом животных. Следовательно, разработанная схема эксперимента позволяет

моделировать патологическую эпилептическую активность мозга у крыс в возрасте от 20 дней жизни и старше. Мы считаем, что данная модель является перспективной для исследования детских формы эпилепсии и их развития, а также позволит исследовать действие фармакологических препаратов для лечения данной патологии в детском возрасте.

Обучение нейронных сетей *in vitro* посредством внеклеточной электрической стимуляции

Корязина Екатерина Александровна

*(Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
Россия, Нижний Новгород, katerina_neuron@mail.ru)*

Экспериментально изучено изменение нейрон-глиальной сети культуры гиппокампа при электрической стимуляции (обучении).

Объектом изучения явилась первичная культура гиппокампа, выращенная на мультieleктродной матрице MED64 (Alpha MED Sciences, Japan). Для получения и анализа данных использовался набор программного обеспечения Conductor™ (Alpha MED Sciences, Japan), а также программный продукт Matlab. Для анализа паттернов активности применялись методы паттернов активации и корреляционных графов.

Разработаны протоколы и проведены эксперименты по обучению нейронных сетей культуры при внеклеточной электрической стимуляции по одному или нескольким различным электродам мультieleктродного сенсора. Проведен анализ изменения функционального состояния сетей культуры при повторяющейся длительной стимуляции. Используя функциональную характеристику сигналов в виде паттернов активации пачек, было изучено изменение отклика (паттерна активации) всей сети нейронов при стимуляции. Установлено, что культура демонстрирует достоверно различные друг от друга, а также по сравнению с контролем, паттерны активации в ответ на стимуляцию по различным электродам. Стимуляция отдельных частей сети нейронов приводит к формированию новых путей распространения сигнала при возникновении пачечной активности.

Результаты показывают возможность селективного обучения в сети гиппокампальных нейронов *in vitro*. Повторяющаяся стимуляция способствует изменениям в нейронной цепи, которая предполагает формирование и модуляцию множества ассоциаций между стимулами и ответами. Обнаружена модуляция паттерна активности нейронной сети после электрической стимуляции, что указывает на возможность изменения пластичности диссоциированных культур нейронов гиппокампа на сетевом уровне в процессе обучения и формирования долговременных функциональных изменений.

Работа поддержана РФФИ (09-04-12254, 09-04-12304, 09-04-97090), Программами Президиума РАН и Министерства образования и науки РФ.

Исследование возрастной динамики межполушарных отношений по параметрам ЭЭГ в процессе мыслительной деятельности

Наумова Екатерина Сергеевна

*(Южный федеральный университет, Биолого-почвенный факультет, Ростов-на-Дону,
Россия, catia.naumova@mail.ru)*

Проблема функциональной межполушарной асимметрии мозга является одной из актуальных мультидисциплинарных общебиологических проблем. Наиболее важным направлением исследований в этой области является изучение межполушарных отношений в процессах мыслительной деятельности. Анализ литературных источников показал, что динамическая полушарная асимметрия лежит в основе адекватного восприятия, оценки информации, играет ведущую роль в формировании когнитивных стилей в процессе развития ребенка, влияет на успешность когнитивной деятельности.

Цель работы – исследовать внутри- и межполушарные характеристики спектров когерентности ЭЭГ у испытуемых с разным латеральным статусом в фоне и в процессе вербальной и образной мыслительной деятельности у испытуемых 3-х групп: 11-12 лет, 15-16 лет и 20-25 лет.

В исследовании приняли участие 187 испытуемых школьников и студентов. У всех обследуемых предварительно определялся профиль ФМА мозга. ЭЭГ регистрировали в состоянии покоя с открытыми глазами и в период решения вербального теста «Исключение лишнего» и теста Равена на аппаратно-программном комплексе ЭНЦЕФАЛАН-131-03. Функция когерентности ЭЭГ (КОГ) вычислялась для межполушарных и внутриполушарных пар отведений. Статистический анализ проводился с использованием ANOVA/MANOVA по программе Statistika 7.

Обнаружено, что у школьников 11-12 лет со смешанным типом доминирования мозговых полушарий уровень внутри- и межполушарной когерентности возрастал по сравнению с исходными фоновыми значениями. У их сверстников с правым профилем ФМА мозга такое увеличение КОГ отмечались лишь некоторых отведениях. У школьников 15-16 лет уровень межполушарной КОГ в процессе мыслительной деятельности снижался по сравнению с исходными значениями, а внутриполушарной – возрастал или снижался в разных отведениях. У студентов 20-25 лет в процессе мыслительной деятельности уровень как внутри- так и межполушарной КОГ снижался по сравнению с фоновыми значениями.

Обсуждаются возможные нейрофизиологические механизмы наблюдаемых различий возрастной динамики КОГ в процессе вербальной и образной мыслительной деятельности.

Картирование функциональной активности мозга обученных крыс методом магнито-резонансной томографии при контрастировании марганцем

**Новицкая Юлия Анатольевна¹, Ещенко О.², Байерляйн М.²,
Логотетис Н.²**

(¹ СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова, Санкт-Петербург, Россия, ² Max Planck Institute for Biological Cybernetics, Germany, Tübingen, yuliya.novitskaya@gmail.com, oxana.eschenko@tuebingen.mpg.de)

Магнито-резонансная томография (МРТ) при контрастировании марганцем является перспективным методом картирования функциональной активности мозга в экспериментальных условиях. При системном введении Mn^{2+} достигает мозга с током крови и распространяется в нервной ткани через вольтаж-зависимые ионные каналы. Внутриклеточное накопление марганца прямо пропорционально нейрональной активности, что позволяет судить о кумулятивной активности нейронов по интенсивности сигнала МРТ. В свою очередь Mn^{2+} , являясь парамагнетиком, усиливает интенсивность сигнала МРТ в структурах мозга с повышенным накоплением контраста.

Цель исследования состояла в картировании функциональной активности мозга методом МРТ при контрастировании марганцем у крыс после обучения задачам, предположительно вовлекающим различные области мозга: пространственные чередования в Т-образном лабиринте и оперантная задача различения звуковых сигналов. Обучение происходило в течение 7 дней, что соответствовало длительности непрерывного системного введения марганца посредством помпы, предварительно имплантированной в брюшную полость животного. В качестве контрольных групп использовали ложно обученных животных и крыс, не подвергнутых процедуре обучения.

МРТ при контрастировании марганцем является многообещающим методом для понимания механизмов высшей нервной деятельности при процессах обучения и памяти. Полученные результаты будут представлены.

Исследование поддержано грантом Boehringer Ingelheim Fonds.

Исследование нейрофизиологических механизмов последовательной зрительной маскировки

Одинцова Нонна Александровна

(Южный федеральный университет, кафедра физиологии человека и животных, Россия, Ростов-на-Дону, werpanta@yandex.ru)

Целью работы являлось исследование механизмов зрительной маскировки в условиях сенсомоторной интеграции. Для этого была использована odd-ball парадигма, основанная на изменении соотношения уровней произвольного (0,15 и 0,5) и произвольного (0,85)

внимания в условиях прямой (ПМ) и обратной (ОМ) последовательной зрительной маскировки.

Методика заключалась в предъявлении 1 или 2-х вспышек яркостью 9 Кд, длительностью 1 мс и с одинаковой вероятностью в качестве целевого стимула. Маскером служил зрительный стимул, состоящий из 3 безинтервальных вспышек. Интервал между целевыми стимулами составлял 4 с с девиацией 20%. Для оценки влияния маскера на эффективность выполнения тестового задания использовался фиксированный ряд интервалов, отделяющий целевой стимул от маскирующего. Регистрация ЭЭГ, ВР и режим стимуляции осуществлялись при помощи энцефалографа-анализатора «Энцефалан-131-03». Анализ ССП и ВР проводился в среде MATLAB.

В результате исследования было обнаружено, что при разновероятном предъявлении стимулов в условиях как прямой, так и обратной маскировки, время реакции было достоверно меньше для частого ($p=0,85$) стимула в ответной реакции правой руки. При редкой стимуляции ($p=0,15$) отмечено достоверное сокращение ВР ответов левой руки по сравнению с аналогичной серией для ответов правой руки.

Анализ компонентного состава связанных с событием потенциалов показал, что ожидание стимулов сопровождалось развитием либо негативного фокуса в теменной области, либо позитивного во фронтальной, что соответствует активации париетальной системы внимания (сосредоточение на целевом стимуле) и игнорированию маскера (притормаживание во фронтальной системе). Негативность рассогласования в затылочной области возникала ассиметрично, с преобладанием фокуса в правом полушарии, что связано с формированием «центра» СМН, оптимизирующего выполнение сенсомоторной реакции. Были зарегистрированы два фокуса Р3б в левом (более длительный и выраженный) и правом полушариях, что свидетельствует о притормаживании негативного правополушарного комплекса CNV-HP за счет позитивного Р3б.

Специфичная транслокация гипокальцина в ответ на стимуляцию глутаматного рецептора

Птуха Анна Юрьевна

*(Национальный технический университет Украины КПИ, Украина, Киев
anna_ptukha@mail.ru)*

Гипокальцин – кальцийсвязывающий белок, относящийся к семейству нейрональных кальциевых сенсоров и являющийся ключевым посредником во многих клеточных процессах, таких как синаптическая пластичность и научение. Однако молекулярные механизмы сигнализации посредством гипокальцина остаются малоизученными. В данной работе проверялась гипотеза о специфичной транслокации гипокальцина в ответ на стимуляцию глутаматного рецептора.

Исследовалась культура трансфицированных клеток гиппокампа крыс, транслокация гипокальцина связанного с желтым флуоресцентным белком вызывалась глутаматом, выделенным в синапсе и введенным методом ионофореза.

Различные паттерны изменений концентраций Ca^{2+} вызывали разное перераспределение гипокальцина между цитозолем и специфичными местами связывания на плазматической мембране дендритов и дендритных шипиков. Локальная активация AMPA-рецептора приводила к быстрой транслокации гипокальцина с YFP к специфичным местам связывания в дендритном дереве в результате вызываемой AMPA-рецепторами деполаризации и следующему за ней вливанию Ca^{2+} через потенциалзависимые кальциевые каналы. Кратковременная активация NMDA-рецептора вызывала быстрое перераспределение гипокальцина-YFP в дендритах в ответ на вливание Ca^{2+} через каналы NMDA-рецепторов. Прямой импульс в сети продуцировал перенос гипокальцина к группе дендритных шипиков при условии выделения нескольких синаптических везикул при данном импульсе. В то же время транслокация на шипиках не наблюдалась при выделении единственной везикулы. Перераспределение на шипиках требовало поступления Ca^{2+} через синаптические NMDA-рецепторы, при котором Mg^{2+} -блокирование ослабляется постсинаптической деполаризацией. Такая транслокация ограничивалась головками шипиков, и близко

расположенные (до 1-2 μm) шипики того же дендритного отростка сигнализировали независимо.

Следовательно, гипокальцин перераспределяется к своим мишеням различным образом в зависимости от пространственно-временных паттернов активации глутаматного рецептора. Предыдущие исследования показали, что гипокальциновая сигнализация играет важную роль в синаптической пластичности, однако клеточные механизмы такой сигнализации не ясны. Возможной причиной является недостаток современных методов исследования быстрого молекулярного движения и взаимодействия в живых клетках. Посредством комбинирования электрофизиологических и флуоресцентных методов получен вывод, что гипокальцин также обладает способностью производить локальную сигнализацию на единичном синаптическом уровне, обеспечивая молекулярный механизм гомосинаптической пластичности.

Влияние иммунизации крыс к 5-НТ-модулину на выработку условных рефлексов с положительным и отрицательным подкреплением.

Сергеева Наталья Игоревна

(Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, irey@rambler.ru)

5-НТ-модулин – эндогенный тетрапептид (Leu-Ser-Ala-Leu), аллостерический модулятор активности 5-НТ_{1В} типа рецепторов серотонина. Одним из перспективных способов изучения функциональной роли эндогенных регуляторов медиаторных систем мозга и, возможно, коррекции патологических изменений является инверсная иммунорегуляция – иммунизация животных ковалентными конъюгатами исследуемых регуляторов с антигенами-носителями; ранее нами было показано, что иммунизация животных к 5-НТ-модулину сопровождалась анксиолитическими и антидепрессивными изменениями в поведении белых крыс, а также биохимическими изменениями, как в дофаминергической, так и в серотонинергической системе мозга животных.

Целью данного исследования было изучение влияния иммунизации к 5-НТ-модулину на обучение – выработку условных рефлексов с положительным и отрицательным подкреплением у белых крыс.

Работа проводилась на самцах белых крыс. Условный пищедобывательный рефлекс вырабатывали в Y-образном лабиринте в течение четырех дней; условный рефлекс активного избегания вырабатывали в специально оборудованной автоматизированной установке в течение 5 дней, условным раздражителем служил звук, а безусловным – ток 0,8 мА.

Во время выработки условного пищедобывательного рефлекса у животных, иммунизированных к 5-НТ-модулину, быстрее по сравнению с контролем происходило уменьшение латентного периода реакции, увеличение числа подходов к подкрепляемой кормушке, а также увеличение числа “чистых” реакций, свидетельствующее об успешной выработке рефлекса. При выработке условного рефлекса активного избегания к концу обучения, на пятый день формирования рефлекса, животные, иммунизированные к 5-НТ-модулину, по всем показателям (уменьшение числа межсигнальных реакций и латентного периода реакции, увеличение количества условных реакций) превосходили контрольную группу.

Проведенные исследования свидетельствуют, что иммунизация к 5-НТ-модулину не оказывает резко выраженных изменений на процессы выработки условных рефлексов как с положительным, так и отрицательным подкреплением, а оказывает небольшой стимулирующий эффект, что согласуется с показанными ранее данными.

**Гендерные различия в динамике функционального состояния
человека-оператора в условиях монотонной деятельности**

Смирнова Екатерина Дмитриевна

(ИВНД и НФ РАН, Россия, Москва, e.d.smirnova@yandex.ru)

В связи с увеличением числа аварий из-за человеческого фактора особо остро стоит проблема ухудшения работоспособности оператора из-за возникновения состояния монотонии. Известно, что женщины лучше переносят однообразную скучную работу, однако, различия воздействия монотонной деятельности на функциональное состояние мужчин и женщин остаются мало изучены.

В нашем эксперименте принимали участие 5 мужчин и 5 женщин, в качестве монотонной деятельности предлагалось вождение на симуляторе водительской деятельности. До и после работы на симуляторе регистрировались электрокардиограмма (ЭКГ), электроэнцефалограмма (ЭЭГ), а так же проводилось психофизиологическое тестирование – тест на сложную зрительно-моторную реакцию и оценка тревожности по шкале Спилберга.

Анализ ЭКГ с помощью метода вариационной кардиометрии показал, что после монотонной деятельности как у мужчин, так и у женщин достоверных изменений частоты пульса не наблюдалось, однако, индекс напряжения у мужчин возрос в среднем на 52%, а у женщин практически не изменился. При этом стандартное отклонение длительности R-R интервалов у женщин увеличилось на 40%, в то время как у мужчин – на 16%.

Нелинейный анализ ЭЭГ выявил, что глобальная корреляционная размерность D2 и до, и после «вождения» у мужчин достоверно выше, чем у женщин, однако, изменение D2 после работы на симуляторе у всей группы было незначительным.

Тестирование по шкале Спилберга выявило увеличение ситуативной тревожности – как у мужчин, так и у женщин, однако, у женщин увеличение было более выраженным (32%).

Среднее время сложной зрительно-моторной реакции практически не изменилось для всей группы, тогда как стандартное отклонение и максимальное время реакции у женщин повысилось на 29% и 32% соответственно, а у мужчин эти показатели либо не изменились, либо незначительно снизились.

Можно говорить о том, что вследствие монотонной деятельности изменяется психологическое состояние и мужчин, и женщин, однако, мужчины в большей степени испытывают нагрузку на сердечно-сосудистую систему, в то время как у женщин ухудшается зрительно-двигательная реакция.

Исследование аудиогенного постиктального синдрома

Сурина Наталья Михайловна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, Opera_ghost@inbox.ru)

Каталепсия – это непроизвольная обездвиженность с пластическим тонусом мускулатуры и арефлексией. У человека каталептические состояния сопутствуют эпилепсии, паркинсонизму, синдрому Туретта, шизофрении, депрессии и др.

Мы предлагаем новый подход в моделировании каталепсии - изучение каталепсии, ассоциированной с заболеванием, при котором она проявляется. В этом плане необходимо подробное исследование каталепсии после развернутого судорожного припадка (постиктальная каталепсия), в частности, после аудиогенного судорожного припадка (АП) у крыс («аудиогенная постиктальная каталепсия», АПК). Несомненными преимуществами такой модели является устойчивость ее проявления, ее высокая воспроизводимость, неинвазивность провокации, а также возможность количественной оценки поведенческих показателей.

Мы показали, что доля животных, обнаруживающих каталепсию и ее длительность коррелируют с интенсивностью АП. Однако эта зависимость прослеживается только у интактных животных. При фармакологическом воздействии можно наблюдать как параллелизм, так и разобщение в проявлении АП и АПК. Отметим, что параллелизм проявлялся при применении препаратов неспецифического действия (леветирацетам

связывается с белками синаптических везикул SV2a, кофеин – повышает общую возбудимость мозга).

Нивелирующее действие феназепам и афобазол на АПК указывает на то, что в ее механизме задействована ГАМК-бензодиазепиновая система, потенциально как модулятор.

NMDA-антагонисты снижают каталепсию, ригидность и акинезию, вызванную D2-антагонистами благодаря противоположному действию D2 и NMDA рецепторов в стриатуме. Можно предположить, что такая координация в паттерне активации дофаминовых и NMDA-рецепторов и лежит в основе того, что МК-801 уже в дозе 0.1 мг/кг (в нашем эксперименте) полностью устранил АПК у крыс линии KM при сохранении судорожных компонентов АП.

Далее, антагонисты глицинового сайта NMDA- рецептора нивелируют каталептогенное действие галоперидола при введении в стриатум. Здесь следует вспомнить, что агонист глицинового сайта NMDA-рецептора D-серин усиливал в наших экспериментах выраженность АПК у крыс линии KM.

Итак, на крысах линии KM мы наблюдали потенцирование АПК NMDA-агонистом D-серином и ее снятие NMDA-антагонистом МК-801, что также имеет место и в случае каталепсии, вызванной D2-антагонистами.

АПК крыс линии KM как экспериментальная модель обладает множеством общих черт с кататоническим синдромом. Это прежде всего сходство внешних проявлений АПК с «негативными» формами кататонии: акинезия, ригидность, полная арефлексия. Кроме того, близка она и по фармакологическому профилю. В этом плане она представляет очевидную ценность для испытания антикаталептических препаратов и оценке их влияния на судорожную готовность мозга.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00481-а.

Влияние цвета на обучение в рамках нейробротной связи по альфа-риту ЭЭГ

Шмаева Татьяна Федоровна

(Санкт - Петербургский Государственный Университет, Россия, Санкт - Петербург, shamaeva.tatyana@gmail.com)

Известно, что методика нейробротной связи позволяет передавать человеку информацию о тех или иных характеристиках электрической активности его мозга с целью их сознательного контроля. Целью данной работы было выявление возможности влияния цвета на скорость обучения с помощью сеанса нейробротной связи по альфа-риту ЭЭГ. В ряде работ было показано, что синий цвет воспринимается людьми как успокаивающий, а красный цвет считается возбуждающим. Основываясь на этом, была выдвинута гипотеза, что при инструкции достигать синий цвет испытуемые будут обучаться быстрее, чем при инструкции достигать красный цвет.

Для проверки гипотезы было проведено 40 экспериментов, в которых приняли участие 20 испытуемых (11 женщин, 9 мужчин). Применялся монополярный метод отведения ЭЭГ в четырех стандартных отведениях (F3, F4, P3, P4). ЭЭГ оцифровывалась с частотой дискретизации 2000 Гц и в режиме реального времени осуществлялась фильтрация альфа-ритма. Перевод ЭЭГ сигнала из временного в частотное пространство осуществлялся с помощью фильтра с бесконечной импульсной характеристикой. Исследование состояло из двух экспериментов по 4 серии. В начале эксперимента регистрировалась фоновая электрическая активность мозга испытуемого, на 2-ом этапе запись ЭЭГ происходила в условиях нейробротной связи с выходным сигналом в терминах насыщенности белого цвета, а 3-ая и 4-ая серии - в условиях красного или синего цвета (по 7 проб) или в обратном порядке. Управление цветом экрана осуществлялось через цветовую модель RGB.

Анализ полученных данных показал, у 17 из 20 испытуемых мощность альфа-активности к седьмой пробе одной цветовой серии достоверно увеличилась независимо от предъявляемого цвета. У половины испытуемых мощность альфа-ритма значительно увеличилась ко второму эксперименту, а у другой половины значительно уменьшилась. Увеличение мощности альфа-активности наблюдалось при предъявлении в качестве сигнала обратной связи красного цвета, нежели при предъявлении синего цвета, что противоречит

изначальной гипотезе. Предполагается, что один из факторов, лежащих в основе полученных результатов, может быть связан с тем, что изменения насыщенности красного цвета по отношению к черному субъективно воспринимаются легче, чем изменения насыщенности синего цвета.

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

Исследование нейрофизиологических механизмов сенсомоторной интеграции в условиях чередования и совмещения прямой и обратной последовательной слуховой маскировки

Ан Анна Сергеевна, Павловская М.А.

(Южный федеральный университет, Кафедра физиологии человека и животных, chaton_ne@mail.ru)

Совмещение прямой (ПМ) и обратной(ОМ) маскировки в одной парадигме, а так же «охватывающая» маскировка представляют собой сложные парадигмы различения целевых стимулов в условиях предъявления помех, что позволит изучить механизмы когнитивных процессов достимульной (волна ожидания) и послестимульной (обнаружение, различение, принятие решения) сенсомоторной интеграции слуховой информации по параметрам связанных с событиями потенциалов (ССП) и динамику времени реакции (ВР).

В качестве целевых стимулов выступали тональные посылки частотой 1 и 1,2 кГц, интенсивностью 60 дБ, длительностью 30 мс. Маскером служил тональный стимул с частотой заполнения 1,1 кГц и интенсивностью 90 дБ. Интервал между целевыми стимулами составлял 4 сек с девиацией 20%. Для оценки влияния маскера на эффективность выполнения тестового задания при чередовании ПМ и ОМ использовался фиксированный ряд интервалов (300, 200, 100 и 50 мс) ,при «охватывающей» маскировке (500, 300, 200, 100 50 мс) отделяющих целевой стимул от маскирующего. В условиях парадигмы «охватывающей» маскировки целевые стимулы подавались с одинаковой вероятностью, а так же с вероятностью 15% (1 кГц) и 85% (1,2 кГц) при «odd-ball»-парадигме.

Чередование процедур ПМ и ОМ привело к увеличению ВР на 200-250 мс при ОМ и на 150-200 мс в условиях ПМ относительно раздельного предъявления этих проб. Динамика ВР в условиях «охватывающей» маскировки отмечена линейным ростом при сокращении маскировочного интервала. Укорочение интервала между целевым и маскирующим стимулом приводит к взаимодействию компонентов ССП маскера N2 и компонентов ССП анализа целевого стимула N2, P2 и NP при ОМ и наоборот – при ПМ, ухудшению эффективности распознавания целевых стимулов.

При «охватывающей» маскировке на интервале 500 мс отмечено взаимодействие позитивной волны P3 в ответ на целевой стимул с CPV (достимульной) на маскер.

Парадигма сложной последовательной маскировки при чередовании процедур ПМ и ОМ и двустороннем следовании маскеров по отношению к целевым стимулам представляет процедуру воздействия маскера на последовательные стадии СМИ (ожидание, восприятие и принятие решения). Метод картирования ССП подтвердил, что нейрофизиологические механизмы последовательной слуховой маскировки базируются на различных взаимоотношениях фронтальной и парietальной систем внимания, модулирующих обработку входящих стимулов.

Влияние утомления и психоактивных веществ на электрическую активность мозга человека

Ахмедов Руслан Алилович

(ГОУ ВПО «Дагестанский государственный университет», Биологический факультет, кафедра анатомии, физиологии, гистологии, Россия, Махачкала, ruslancheek@gmail.com)

Вопрос об особенностях отражений на электроэнцефалограмме (ЭЭГ) состояний мозга при действии факторов различной природы до сих пор остается открытым.

Известно, что как умственная, так и физическая работоспособность человека обеспечивается, прежде всего, функциональным состоянием нервной системы и различных

взаимодействующих между собой мозговых структур. Литературные данные также свидетельствуют о влиянии различных химических веществ на ЭЭГ.

ЭЭГ-признаки, отражая нейрехимические процессы мозга, могут охарактеризовать особенности выхода из измененного состояния с минимализацией отрицательных последствий для организма.

В связи с этим оценка состояния мозга по данным ЭЭГ имеет важное значение. Целью исследования является сравнительное изучение влияния утомления и химических веществ на показатели ЭЭГ.

Исследования по влиянию алкоголя и героина проводили на базе отделения наркологии Центральной клинической больницы республики Дагестан. При этом всего обследовано 20 аддиктивных больных, злоупотребляющих алкоголем и героином. Больные находились в состоянии абстинентного синдрома.

ЭЭГ регистрировали в виде непрерывной записи величин разности потенциалов между двумя точками головного мозга.

После физического (занятия физкультурой) и умственного (после 4-й пары занятий) утомления и хронического действия психоактивных веществ наблюдается десинхронизация (депрессия) альфа-ритма и усиление бета- и медленноволновой активности. Однако, в случае с утомлением указанные изменения носят временный характер, тогда как при действии психоактивных веществ изменения более стойкие и затрагивают глубокие структуры мозга.

Исследование биоэлектрической активности головного мозга при физическом и умственном утомлении, алкоголизме и наркомании позволяет выявить как общие, так и частные признаки отклонения от нормативных данных, что может указывать на отражение в ЭЭГ общебиологических и специфических основ влияния физических и фармакологических агентов, вызывающих феномен зависимости.

Протеасомные механизмы пластичности ЦНС у мышей, нокаутных по β -микроглобулину

Богатырев Михаил Евгеньевич

*(Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН, лаборатория биохимии,
michael.bogatyrev@gmail.com)*

Одной из систем, обеспечивающих нейрональную пластичность у млекопитающих, являются протеасомы – протеолитические комплексы, образующие олигопептиды, презентруемые на поверхность клеток в комплексе с молекулами Главного Комплекса Гистосовместимости класса I (ГКГ1). Экспрессия молекул ГКГ1 на поверхности нейронов играет важную роль в обеспечении синаптической пластичности и в развитии нервной системы млекопитающих. Известно, что у мышей, нокаутных по β 2-микроглобулину, нарушены процессы долговременной потенциации. Целью работы было изучить пул протеасом у мышей, нокаутных по β 2-микроглобулину. Химотрипсин-подобную активность (ХПА) оценивали по деградации специфического флюорогенного субстрата в единицу времени, а общий уровень протеасом и содержание субъединиц LMP2 и LMP7 иммунных протеасом проводили с помощью метода вестерн-блоттинга в различных отделах головного мозга: фронтальной коре (коре), стриатуме, медиабазальном гипоталамусе, мозжечке и стволе мозга животных контрольной и опытной групп. При анализе содержания иммунных протеасом в ЦНС мышей оказалось, что количество иммунной субъединицы LMP7 в коре увеличено, а в стриатуме снижено у β 2м-нокаутных животных. Обнаружено снижение содержания регуляторной субъединицы PA28 α и тотального пула протеасом в стриатуме, стволе мозга и увеличение уровня регуляторной субъединицы PA28 α в коре β 2м-нокаутных мышей. ХПА была снижена в стриатуме и стволе нокаутных животных. В коре, мозжечке и стволе мозга β 2м-нокаутных мышей снижена экспрессия NeuN (нейронального ядерного белка). В каудальных отделах мозга снижена, а в коре отмечено достоверное увеличение экспрессии gFAP (глиального фибриллярного кислого белка). Кроме того, была изучена экспрессия nNOS и HSP70 сигнальных белков, участвующих в регуляции экспрессии иммунных субъединиц протеасом. Обнаружено повышенное содержание nNOS и HSP70 в

коре, где увеличено количество иммунных протеасом, а также снижение в стриатуме $\beta 2$ -нокаутных животных. По-видимому, изменение содержания иммунных протеасом, NeuN и gFAP в исследованных структурах ЦНС связано с процессами нейрогенеза и дифференцировки в этих структурах, и служит адаптивным механизмом к отсутствию ГКГ1 у $\beta 2$ -нокаутных мышей.

Работа поддержана РФФИ (грант № 09-04-00077а).

Эффекты повышения цАМФ на динамику мембранного и порогового потенциалов командных нейронов виноградной улитки при обучении

Головченко Александра Николаевна

(Казанский физико-технический институт КНЦ РАН, лаборатория биофизики, Россия, Казань, golovtchenkoan@mail.ru)

Сигнальная система цАМФ является универсальной системой трансмембранной передачи сигнала во многих клетках, включая нейроны. цАМФ регулирует скорость различных внутриклеточных процессов, вызывая активацию или подавление различных ферментов клеточного метаболизма, а также играет важную роль на разных этапах обучения и памяти.

Все эксперименты проводились на наземных легочных моллюсках *Helix lucorum*. Измерения электрических характеристик нейронов осуществляли на изолированном препарате нервной системе. В ходе эксперимента регистрировали мембранный и пороговый потенциалы у обученных и контрольных улиток при аппликации в раствор, омывающий препарат, ингибитора фосфодиэстеразы (ИВМХ), водорастворимого аналога цАМФ (8Br-цАМФ) и серотонина. Контролем служили результаты, полученные в физиологическом растворе.

Использование в нашей работе ИВМХ, 8Br-цАМФ, повышающих содержание цАМФ разными способами, и серотонина, который действует через активацию аденилатциклазной системы, приводит к деполяризационному сдвигу мембранного потенциала исследуемых нейронов при неизменном пороговом потенциале в обеих группах. Это свидетельствует о том, что изменения этих параметров идут по разным механизмам, и в изменении мембранного потенциала, по-видимому, участвует аденилатциклазная система, при этом сами механизмы остаются, не известны, но непременно должны выражаться через ионные каналы, прежде всего K^+ -каналы утетки. Однако в группе контрольных улиток после аппликации ИВМХ мембранный потенциал достоверно не изменился, что вызвано малой активностью фосфодиэстеразы, которая увеличивается лишь в результате повышения уровня цАМФ. Снижение мембранного и повышение порогового потенциалов в группе обученных улиток после аппликации серотонина говорит о снижении возбудимости в нейронах, возможно, это связано с тем, что клетка предохраняет себя от перевозбуждения в ответ на внеклеточный серотонин, который может быть выброшен из модуляторных серотонинсодержащих нейронов pedalного ганглия.

ЭЭГ-корреляты процессов подготовки саккады на зрительные стимулы в экспериментальной схеме «Двойной шаг».

Иванова Анна Андреевна, Котенев А.В.

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва)

На 13 испытуемых исследовалась величина латентного периода (ЛП) саккады и топография усредненных пресаккадических потенциалов при предъявлении двух коротких последовательных зрительных стимулов в различных полуполях по схеме «двойной шаг».

Установлена зависимость характера ответа (две саккады или одна саккада на второй стимул в противоположном полуполе) от длительности и пространственного расположения первого стимула, а также индивидуальных особенностей испытуемых. При короткой длительности первого стимула (50 или 70мс) показано увеличение латентного периода саккады (68 ± 8 мс), и увеличение числа одиночных саккад (38,7 и 64,7 %% соответственно, $p < 0.05$) по сравнению со стимулом в 150мс. что может отражать замедление процесса зрительного восприятия и программирования саккады под влиянием тормозного сдвига

непроизвольного автоматического внимания. Показана зависимость выраженности и топографии пресаккадических потенциалов ЭЭГ в интервале латентного периода саккады и в период ожидания стимулов при фиксации глаз от характера ответной саккадической реакции. В случае появления одиночной саккады на второй стимул показано увеличение латентности и амплитуды пиков вызванных потенциалов со средней латентностью P1 и N1 на включение первого стимула по сравнению с двумя саккадами (на 12 ± 4 мс и на 2 ± 0.6 мкВ, соответственно, $p < 0.05$). Этот феномен может отражать процессы интерференции зрительных стимулов, включающие конкурентное торможение двигательной программы первой саккады.

Во всех условиях предъявления стимулов было установлена локализация фокусов пресаккадических потенциалов как в латеральных, так и в сагиттальных зонах коры (Fz, FCz, Cz, CPz и Pz) и переход их фокусов при развитии потенциалов из фронто-центральных отделов в теменно-затылочные. Подобная топография потенциалов может отражать включение ведущих корковых зон саккадического контроля, а также фронто-медио-таламической и таламо-париетальной модулирующих систем избирательного внимания в процессы саккадической подготовки за счет нисходящих «top-down» влияний.

Полученные данные позволяют предположить, что программирование двух или одной саккады в экспериментальной схеме «двойной шаг» определяется не только завершенностью стадии принятия решения о первой саккаде к моменту предъявления второго стимула, но также процессами скрытого внимания в период ожидания стимула, направление которого может определять характер ответа.

Работа выполнена при поддержке фонда РФФИ (проект № 08-04-00308).

Влияние утомления при динамической нагрузке на процесс непроизвольного внимания и параметры негативности рассогласования

Князева Вероника Михайловна, Дейнекина Т.С.

(Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, werwulf.90@mail.ru)

Целью работы было исследовать связь центрального утомления и процессов непроизвольного внимания. Во время развития центрального утомления происходит угнетение когнитивных функций. Особенно страдает процесс внимания. Известно также, что внимание является важнейшей активирующей системой, за счет сигналов ретикулярной формации. Критерием активации системы непроизвольного внимания является негативность рассогласования.

Эксперимент проходил в два этапа. На первом этапе были выявлены оптимальные условия нагрузки, необходимые для развития требуемой степени утомления. В ходе эксперимента испытуемый производил сжатие динамометра на стимул частотой 1200 Гц. Эксперимент состоял из двух частей: «парадигма oddball» и «парадигма deviants only». Каждая парадигма состояла из 2 одинаковых блоков разделенных 3 минутным перерывом. «Парадигма oddball» состояла из стандартных стимулов (1000 Гц) и девиантных стимулов (1200 Гц). «Парадигма deviants only» из стимулов частотой 1200 Гц. Место предъявления стимулов в обеих парадигмах было фиксировано. В начале и в конце каждого блока измерялась величина максимального произвольного сокращения. В ходе эксперимента велась регистрация электроэнцефалограммы.

При оценке значений максимальных произвольных сокращений была показана большая утомляемость испытуемых в «парадигме deviants only» по сравнению с «парадигмой oddball». Это находит отражение в больших значениях максимальных произвольных сокращений во втором блоке «парадигмы oddball» по сравнению со вторым блоком «парадигмы deviants only». Так как данные эксперименты не отличаются ни по каким параметрам кроме генерации негативности рассогласования в «парадигме oddball», то данный эффект может быть объяснен активацией системы непроизвольного внимания в этой парадигме. Возможно, активирующие влияния оказываются в период трехминутного отдыха. Также было обнаружено влияние утомления на параметры вызванных потенциалов. В «парадигме oddball» было показано уменьшение амплитуды волны P3 во втором блоке по

сравнению с первым. Для «парадигмы deviants only» было показано уменьшение амплитуды волны N1 во втором блоке по сравнению с первым.

Работа выполнена при финансовой поддержке федеральной целевой программы "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России", ГК 14.740.11.0232.

Нейрофизиологические показатели выполнения вербальных и невербальных нагрузок

Кундупьян Оксана Леонтьевна, Кундупьян Ю.Л.

(Южный федеральный университет, Россия, Ростов-на-Дону, diamanta@mail.ru)

В основе межполушарных различий при зрительном опознании лежат различные способы описания изображений в правом и левом полушариях головного мозга. Правое и левое полушария используют разные стратегии обработки зрительной информации. Традиционно процессы пространственного мышления связывают с работой правого полушария, особенно его теменных отделов. Целью нашего исследования было изучить особенности выполнения вербальных и невербальных нагрузок по показателям ЭЭГ, связанных с событием потенциалов (ССП) и времени реакции (ВР).

В исследование принимало участие 20 человек в возрасте от 20 до 26 лет. В качестве модели деятельности предлагались вербальные и невербальные задачи. Каждый обследуемый должен был проанализировать 100 слайдов для каждой задачи, исключая неподходящее по смыслу слово или картинку на слайде. Во время выполнения теста регистрировали ВР, ЭЭГ и ССП при помощи компьютерного энцефалографа-анализатора «Энцефалан-131-03» (изготовитель - НПКФ «Медиком - ЛТД», г. Таганрог). Оцифрованная ЭЭГ и ВР экспортировались в программную среду MATLAB, где проводилась дальнейшая обработка сигналов.

В результате проведенных исследований было обнаружено, что при выполнении образных задач более быстрая реакция наблюдалась для левой руки по сравнению с правой рукой, а при решении вербальных задач была обратная тенденция. Согласно данным ЭЭГ, выполнение невербальных задач, по сравнению с вербальными нагрузками, сопровождалось преобладание теменно-затылочных областей в диапазоне дельта-активности, правосторонней асимметрией тета-активности и левосторонней асимметрией альфа-активности. Анализ ССП показал, что при выполнении вербальных и невербальных заданий имела некоторая асимметрия в локализации компонентов N1, P3. Кроме того, при дальнейшем выполнении тестового задания в ССП появлялся компонент N400, и наблюдалась цикличность – чередование позитивности и негативности. Для невербального задания длина циклов составляла от 500 до 1200 мс, а для вербального - от 500 до 1500 мс. Таким образом, решение вербальных и невербальных заданий, вероятно, контролируется разными механизмами, осуществляющими функциональную межполушарную асимметрию.

ЭЭГ-корреляты индивидуально-типологических особенностей человека в психомоторной деятельности

Лазуренко Дмитрий Михайлович

(ЮФУ, Россия, Ростов-на-Дону, mityasky@ya.ru)

Как известно, структурно-функциональная организация нервной системы в значительной степени определяет характеристики пространственно-временной структуры ЭЭГ и индивидуально-типологические свойства личности. Настоящее исследование было направлено на изучение взаимосвязи свойств нервных процессов (силы, уравновешенности, подвижности) с параметрами ЭЭГ, регистрируемой в состоянии покоя и в процессе психомоторной деятельности – выполнения человеком реальных и мысленных движений.

В обследовании приняли участие 15 студентов и сотрудников ЮФУ (9 девушек и 6 юношей, средний возраст группы составил 22 года). В процессе работы они реально или мысленно выполняли 3 типа движений, правой и левой руками. Начало соответствующего движения задавалось слайдами с изображениями стрелок.

ЭЭГ регистрировали от 14 областей коры по схеме 10×20, монополярно. Оценивали усредненную спектральную мощность (СпМ) дельта-, тета-, альфа-, бета-1-, бета-2-, гамма-1-

(30,0-48,0 Гц) и гамма-2-(52,0-70,0 Гц) частотных диапазонов. Обследование с помощью тестового опросника Стреляу, характеризующего силу, уравновешенность и подвижность нервных процессов, позволило разделить обследуемых ($F_{1,2}(1;13)=8,248$; $p=0,013$) на 2 группы: группа 1 (6 чел.) - со «слабой»; группа 2 (9 чел.) - с «сильной» нервной системой. В каждую группу входили представители обоих полов.

Половых различий в пространственно-временной организации ЭЭГ обнаружено не было. ANOVA-анализ выявил достоверные межгрупповые различия в показателях СпМ ЭЭГ, зарегистрированной как в состоянии покоя с открытыми глазами ($F_{1,2}(1;2932)=44,326$; $p=0,000$), так и в состоянии активного бодрствования ($F_{1,2}(1;2932)=54,711$; $p=0,000$). Данные различия были наиболее выражены на альфа-, бета- и гамма-частотах у лиц с «сильной» нервной системой. Мощность альфа- и бета-частот в ЭЭГ лиц 2 группы (по сравнению с 1) была выше в 3-3,5 раза в покое и в 2-2,5 – в деятельности. При этом, рост высокочастотной (гамма) активности при выполнении реальных движений у них был характерен как для отведений левого, так и правого полушария, а мысленных - височных и теменно-затылочных отведений правой гемисферы. В группе лиц со «слабой» нервной системой не удалось выявить сколько-нибудь значимых ЭЭГ-коррелятов двигательных или идеомоторных актов.

Выражаю благодарность моему научному руководителю д.б.н., профессору Валерию Николаевичу Кироу за всестороннюю помощь и поддержку.

Полиморфизм *DRD2* и пик-волновые разряды на фоновой электроэнцефалограмме крыс при абсансной и смешанной эпилепсии **Мусина Альбина Мубараковна**

(ГОУ ВПО «Башкирский Государственный Университет», Россия, Уфа, marmishka-06@mail.ru)

У крыс линии WAG/Rij описаны два типа пароксизмальной активности: широко генерализованные по коре разряды и малые разряды, отличающиеся по форме и длительности. Эти два типа активности получили название разрядов «пик-волна» 1 –го и 2-го типа.

Целью проведенного исследования являлось характеристика разрядов первого и второго типа на электроэнцефалограмме у двух субпопуляций крыс линии WAG/Rij, имеющих модификацию рецептора дофамина второго типа *DRD2*.

Для работы использованы 12 животных с генотипом A_1/A_1 по локусу *TAG 1A гена DRD2* (условное обозначение данной группы A1A1) и 12 животных с генотипом A_2/A_2 по тому же локусу (обозначение – A2A2). Регистрацию ЭЭГ осуществляли с помощью хронически вживленных электродов, располагающихся над лобной, теменной и затылочной областями коры (референтный – над мозжечком). Электроды, представляющие собой стальные микровинты, были вживлены под наркозом (хлоралгидрат, 400 мг/кг внутривенно).

Разряды второго типа, локализованные в затылочной коре, обнаружены у двух крыс группы A2A2. У них зарегистрировано 32 разряда второго типа. У крыс группы A1A1 разряды второго типа не зарегистрированы. Только 16% крыс группы A1A1 в выборке из десяти поколений проявляют чувствительность к аудиогенной стимуляции, а у крыс группы A2A2 95% животных склонны к аудиогенным судорогам. Поэтому полученные различия в ЭЭГ крыс групп A1A1 и A2A2 (разные типы разрядов), мы склонны рассматривать как результат вовлечения у крыс группы A2A2 в патогенез эпилепсии стволовых отделов мозга. Крысы группы A1A1 имеют достоверно большую продолжительность разрядов первого типа в ЭЭГ соматосенсорной коры по сравнению с крысами группы A2A2; $p<0,001$. Количество SWD в ЭЭГ крыс группы A1A1 значительно больше по сравнению с группой A2A2 ($p<0,001$). Поскольку полиморфные локусы гена рецептора дофамина второго типа (*DRD2*) способны влиять на экспрессию двух его изоформ (L и S), приводя к изменению синтеза дофамина, следствием чего является формирование повышенной или сниженной активности дофаминергической системы. Полученные нами различия в количественном соотношении пик-волновых разрядов у крыс группы A1A1 и A2A2, могут быть вследствие снижения функционирования дофаминергической системы мозга у крыс группы A1A1.

Характер влияния прогестерона на психоэмоциональное состояние животных, находящихся под хроническим воздействием алкоголя
Седых Николай Николаевич, Завидовский Б.И., Дмитриев Л.С.

(Донецкий национальный университет, Украина, Донецк, maestrorulit@mail.ru)

Характер хронического воздействия алкоголя на психоэмоциональные показатели и методы коррекции различных нарушений, связанных с воздействием этанола, являются одной из актуальнейших проблем современной физиологии и медицины.

Целью представленного фрагмента комплексной работы является исследование возможной корректирующей роли женского полового стероида на психоэмоциональный статус самцов белых крыс при хронической алкоголизации.

Эксперимент был выполнен на 20 беспородных белых крысах-самцах массой 180 ± 15 г., которые были случайным образом разделены на 2 равные группы. Первая служила условным контролем: на ней исследовалось влияние хронической алкоголизации (2 мл/кг 10%-го раствора этилового спирта в расчете, 14 дней, в/бр) на показатели поведенческой активности в продырявленном поле (ПП) и тревожности в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ); вторая – опытная – вместе с этанолом в той же дозе получала подкожные инъекции прогестерона (масляный раствор, 1 мг/кг). Первичные экспериментальные данные обрабатывались с помощью общепринятых методов математической статистики с помощью пакета программ STATISTIKA 6.0 и Excel.

Так, было установлено, что хроническая алкоголизация не повлияла достоверно на уровень тревожности белых крыс, в то время как совместные инъекции этанола с прогестероном вызвали рост данного показателя в среднем на 45,5% ($p_u < 0,05$). Интересным оказался тот факт, что в подгруппе хронически алкоголизованных крыс наблюдалось значительное увеличение количества вертикальных стоек в условиях ПКЛ (в 3,5 раз, $p_u < 0,01$), в то время как в подгруппе опытных крыс данные поведенческие проявления сократились в такой же степени ($p_u < 0,05$). Относительно результатов, полученных в ПП, можно заключить, что хроническая алкоголизация выявила некоторое увеличение проявлений двигательной и исследовательской активностей, в то время как совместное принятие этанола с прогестероном оказали противоположное воздействие на данные показатели. Но, данные тенденции не являлись достоверными. Однако, выявлен значительный рост частоты актов груминга в подгруппе условного контроля (в 4,3 раза, $p_u < 0,05$), что свидетельствует о росте беспокойства у животных (реакция замещения). У животных подгруппы опытной данный показатель напротив снизился на 54,7% ($p_u < 0,01$), что указывает о некотором корректирующем воздействии женского полового стероида прогестерона на психоэмоциональный статус самцов белых крыс.

Половые различия процессов автоматической обработки мозгом информации о длительности стимула

Среднякова Ксения Андреевна

(Томский государственный университет, Россия, Томск, eire22@yandex.ru)

Вопрос о том, как человек воспринимает время, и какие факторы влияют на этот процесс, остается нерешенным. Одним из перспективных методов изучения механизмов восприятия времени является метод связанных с событиями потенциалов (ССП) мозга. В задачу настоящего исследования входило изучение влияния фактора пола на компонент ССП - негативность рассогласования (НР), связанного с автоматической обработкой информации о длительности стимула.

Для решения этой задачи у 16 мужчин и 15 женщин в возрасте от 18 до 29 лет исследовали слуховые и зрительные ССП. Испытуемым предъявлялись стимулы в стандартной odd-ball парадигме. Стандартные стимулы включали интервалы длительностью менее 500 мс и секундный интервал. Для каждого стандартного стимула в отдельной серии предъявлялись девиантные стимулы, отличающиеся по длительности либо на 10-20% (малое стимульное отклонение), либо более чем на 20% (большое стимульное отклонение).

Для установления влияния фактора пола на амплитуду НР были получены разностные ССП между стандартными и девиантными стимулами отдельно для мужчин и для женщин. При сравнении разностных ССП амплитуда НР у женщин на стимулы обоих модальностей

была значимо выше, чем у мужчин. При этом оказалось, что амплитуда НР у женщин для интервалов менее 500 мс выше при большем стимульном отклонении, а для секундного интервала – при малом стимульном отклонении. У мужчин зависимость амплитуды НР от величины стимульного отклонения и длительности стандартного стимула не обнаружена.

Можно предположить, что влияние половых различий на процессы автоматической обработки информации мозгом о длительности стимула связано с особенностями латеральной организации мозга у мужчин и женщин, что может оказывать влияние на активность его структур. В частности известен факт участия у женщин обоих полушарий мозга в дискретном вербально-логическом мышлении, что позволяет им быть более успешными в речевых заданиях. Возможно, это может так же помогать им и в автоматической обработке информации о длительности стимула.

Сравнительный анализ МР-томограмм головного мозга здоровых детей и детей с ДЦП

Торонова Наталья Олеговна¹, Александров Т.А.²

(¹Санкт-Петербургский Государственный Университет, ²Первая Санкт-Петербургская Государственная Медицинская Педиатрическая Академия, Россия, Санкт-Петербург, prettily@mail.ru, ale-tim@list.ru)

В последнее десятилетие, в результате совершенствования служб реанимации и интенсивной терапии, значительно снизилась смертность недоношенных и рожденных в результате осложненной беременности младенцев. Однако у таких детей велик процент патологий ЦНС, ранняя диагностика которых затруднена, в том числе в связи с недостатком знаний о закономерностях пренатального развития мозга, особенно неокортекса.

Цель работы – опираясь на результаты собственных исследований об особенностях нейрогенеза коры полушарий мозга во второй половине внутриутробного онтогенеза, провести морфометрический анализ межполушарных корковых связей на МР томограммах мозга детей больных ДЦП и контрольной группы.

Материалом для исследования служили томограммы мозга 26 детей с диагнозом ДЦП в возрасте от 1,5 до 15 лет и 15 детей, которые не имели неврологического диагноза, а их обследование проводилось по иной причине. Морфометрическое исследование осуществлялась с помощью программы обработки изображений Image J.

В результате были обнаружены устойчивые закономерности в соотношении частей мозолистого тела и фронто-окципитального диаметра головного мозга. Получены пороговые значения этих показателей, по которым мозг пациентов с ДЦП отличается от мозга детей группы контроля независимо от возраста и даже в тех случаях, когда никаких анатомических отличий в организации проводящих трактов или серого вещества выявить не удалось.

Принимая во внимание строгую топографию межполушарных связей в составе мозолистого тела можно предположить, что обнаруженная закономерность отражает состояние определенных корковых областей. С учетом изложенных данных и ранее полученных результатов мы предполагаем, что существует взаимосвязь между развитием ассоциативных проводящих систем и гетерохронной последовательностью дифференцировки коры в пренатальном онтогенезе, при этом критические периоды повышенной уязвимости удаленных друг от друга и функционально специализированных корковых территорий совпадают с разными этапами гестации. Полученные результаты подтверждают высказываемое многими авторами предположение о том, что ДЦП может иметь внутриутробный генез. В дальнейшем предложенная методика может лечь в основу ранней диагностики гестационных патологий ЦНС.

Авторы выражают благодарность П.А. Зыкину и Е.И. Краснощековой, под руководством которых была выполнена работа. Работа выполнена за счет средств тематического плана НИР СПбГГУ.

Структурно-количественная характеристика миндалевидного комплекса мозга крыс Крушинского – Молодкиной после многократных аудиогенных судорог.

Фаршатова Елена Олеговна

(ГОУ ВПО «Башкирский Государственный Университет», Россия, Уфа, chudo_nik@mail.ru)

Несмотря на то, что эпилепсия является самым распространенным заболеванием нервной системы человека, этиология и патогенез этого тяжелого недуга остаются до сих пор не до конца раскрытыми. Крысы Крушинского-Молодкиной (КМ), селекция которых проводится на кафедре высшей нервной деятельности МГУ, являются признанной моделью аудиогенной эпилепсии. Эпилептическая система у них формируется за счет структур ствола мозга. Вопрос о том, какие изменения в эпилептической системе этих крыс вызывают многократные аудиогенные судороги и вовлечен ли в этот процесс миндалевидный комплекс (МК) не исследован, поэтому данная задача актуальна.

Целью работы являлось исследование структурно-количественных характеристик миндалевидного комплекса крыс КМ после 30 аудиогенных припадков максимальной интенсивности (4 балла по Крушинскому). Работа выполнена на (14) половозрелых крысах в возрасте шести месяцев. Крысы были разделены на две группы – контрольную и опытную, которые содержали в идентичных условиях вивария. Измерение площадей структур базолатеральной и кортикомедиальной группировки МК, всего МК и полушарий конечного мозга проводили на цитоархитектонических препаратах, представлявших собой фронтальные срезы толщиной 20 мкм, окрашенных по Нисслю. Препараты изучали с помощью триокулярного светового микроскопа серии МС-300 (Австрия), пользуясь объективами 10 и 40. Микрофото получали с использованием цифрового фотоаппарата Canon (Canon PowerShot A 540, Китай) и анализировали с помощью программы Universal Desktop Ruler. Измеряли абсолютные и удельные площади структур.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что после 30 аудиогенных судорог удельная площадь МК у крыс КМ значимо уменьшается: если у контрольной группы этот показатель равен $14,14 \pm 0,32$ мм², у опытной он составляет $12,65 \pm 0,34$ мм² ($p < 0,001$). Сравнение площадей кортико-медиальной и базолатеральной группировки у контрольных и опытных крыс показало наличие тенденции к их уменьшению ($p < 0,07$). В целом, приведенные данные позволяют предполагать, что многократные, вызванные аудиогенной стимуляцией, судороги у крыс КМ приводят к изменению структурно-функциональной организации МК этих крыс.

Оценка антидепрессантной активности прогестерона при хронической алкоголизации

Фролова Галина Александровна

(Донецкий национальный университет, Биологический факультет, Украина, Донецк, gljukkk@ukr.net)

Общеизвестным является тот факт, что женские половые стероиды выступают в качестве нейромодуляторов многих нейромедиаторов в ЦНС. Однако, некоторые его свойства, связанные с таким эффектом, до конца не выяснены.

Целью представленного фрагмента комплексной работы является оценка антидепрессантной активности женского полового стероида прогестерона при хронической алкоголизации.

Эксперимент был выполнен на 20 беспородных белых крысах-самцах массой 180 ± 15 г., которые были случайным образом разделены на 2 равные группы. Первая служила условным контролем: на ней исследовалось влияние хронической алкоголизации (2 мл/кг 10%-го раствора этилового спирта в расчете, 14 дней, в/бр) на показатели депрессивности в тесте Порсолта; вторая – опытная – вместе с этанолом (в той же дозе, что и первая) получала подкожные инъекции прогестерона (масляный раствор, 1 мг/кг). Показатели депрессивности определяли в условиях стандартного теста Порсолта. Первичные экспериментальные данные обрабатывались с помощью общепринятых методов математической статистики с помощью пакета программ STATISTIKA 6.0 и Excel.

При анализе полученных результатов, установлено, что в группе опытных животных доли активного, пассивного плавания и иммобилизации достоверно не отличались от исходных показателей. В то время как крысы группы условного контроля выявили значительное увеличение (в 1,9 раза, $p_u < 0,01$) доли иммобилизации и сокращения в 1,5 раза ($p_u < 0,05$) времени активного плавания. Показатели пассивного плавания не отличались от исходных в обеих группах. В то же время, у самцов условного контроля выявлено снижение суммарного количества периодов активного плавания ($p_u < 0,05$), в то время как у крыс, получавших прогестерон, этот показатель достоверно не отличался от показателей контрольного тестирования.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что женский половой стероид прогестерон обладает некоторым антидепрессивным эффектом в отношении алкоголизованных крыс.

ПОДСЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Влияние мутации по генам рецепторов цитокинина на транскрипцию хлоропластных генов *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Данилова Мария Николаевна

(Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, Россия, Москва, MariaDanilova86@yandex.ru)

Регуляция биогенеза хлоропластов – одно из наиболее важных проявлений функциональной активности цитокининов. В настоящее время активно изучается механизм транскрипции хлоропластного генома и участие фитогормонов в этом процессе. Цитокинины регулируют экспрессию генов растительного организма с помощью двукомпонентной системы трансдукции сигнала: связываясь с мембранными рецепторами, они инициируют каскад передачи сигнала, приводящий к активации специфических цитокинин-чувствительных генов. К настоящему времени у *Arabidopsis thaliana* выявлено три рецептора цитокинина: АНК2, АНК3 и АНК4.

Цель данной работы заключалась в исследовании возможного влияния мутации по генам, кодирующим один из трех рецепторов цитокинина, на транскрипцию хлоропластных генов *Arabidopsis thaliana*, а также в изучении влияния на этот процесс экзогенных фитогормонов.

Работу выполняли на трансгенных растениях *Arabidopsis thaliana*, у которых был инактивирован один из трех генов рецепторов цитокинина. Розеточные листья трехнедельных растений арабидопсис на свету опрыскивали водой или раствором синтетического аналога природного цитокинина 6-бензиламинопурина (БАП, 5 мкМ) и по истечении 6 часов определяли интенсивность транскрипции хлоропластных генов. Оценку влияния цитокинина на интенсивность транскрипции хлоропластных генов проводили при помощи метода *qun-on* транскрипции. Для анализа нами были выбраны следующие гены: *rrn16* (16S рибосомная РНК), *rbcl* (большая субъединица РБФК), *atpB* (β -субъединица АТФ-синтазы), *psaB* (P700- апобелок А2 ФС1), *psbA* (D1 белок ФСII), *psbD* (D2 белок ФСII). Результаты *qun-on* транскрипции показали, что мутации по генам рецепторов цитокинина АНК2, АНК3, АНК4 подавляли экспрессию вышеперечисленных генов, при этом наибольший ингибирующий эффект на транскрипцию оказывало отсутствие АНК3 рецептора цитокинина. Обработка этих растений раствором цитокинина вызывала повышение уровня транскрипции всех исследуемых генов. Полученные результаты указывают на возможность вовлечения АНК3 киназы в регуляцию цитокинином транскрипции хлоропластных генов.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №11-04-01008).

Автор выражает искреннюю благодарность за помощь в проведении работы своим руководителям – к.б.н., с.н.с. Кудряковой Н.В. и д.б.н., с.н.с. Кузнецову В.В.

Ассоциативные ризобактерии повышают засухоустойчивость фацелии

Муратова Рузилья Рамильевна

(Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Россия, Санкт-Петербург, ruzilial@yandex.ru)

В связи с глобальным изменением климата и расширением площадей засушливых земель, исследование влияния засухи приобретает особую актуальность. Засуха ингибирует многие метаболические процессы, лимитирует рост и продуктивность растений. В связи с этим представляет большую актуальность изучение физиологических особенностей фацелии рясинколистной (*Phacelia tanacetifolia* Benth.) при инокуляции ризобактериями в условиях нормального увлажнения (НУ) и почвенной засухи (ПЗ).

Исследования проводились в условиях вегетационного опыта на биостанции РГПУ им. А.И. Герцена (пос. Вырица) в 2010 г. Для предпосевной инокуляции семян использовали

препараты: азоризин, 5С-2, мизорин, флавобактерин (ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, г. Пушкин). Основные физиологические показатели определены по стандартным методикам.

Выявлено, что инокуляция семян ризобактериями снижает торможение роста растений в высоту, сохраняется листовая поверхность, которая у инокулированных растений превышала контрольные на 40-60%. Содержание хлорофилла у обработанных растений после ПЗ было больше и приближалось к аналогичному показателю у растений, выросших при НУ. При дефиците влаги в растительных клетках проницаемость мембран увеличилась в среднем на 40% по сравнению с растениями, выросшими при НУ. При использовании ризобактерий в условиях ПЗ увеличивается содержание пролина (18-45%) и аскорбиновой кислоты относительно контроля, что говорит об усилении защитных механизмов. При засухе масса сухого вещества растений снижалась во всех вариантах, но в меньшей степени у растений, инокулированных такими бактериальными препаратами как 5С-2 и мизорин.

Таким образом, ассоциативные ризобактерии при кратковременной почвенной засухе в фазу бутонизации и цветения стабилизируют нормальный рост и развитие фацилии, способствуют сохранению листовой поверхности и содержанию в ней пигментов. В растениях повышается концентрация свободного пролина и аскорбиновой кислоты, выполняющих защитную функцию, а так же меньше нарушается целостность мембран. У растений, обработанных ризобактериями, увеличивается водоудерживающая способность, что в условиях водного стресса способствует сохранению содержания воды в тканях.

Низкотемпературный стресс и изучение взаимосвязи корень – побег у проростков пшеницы

Нохсоров Василий Васильевич

*(ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова»
Биолого-географический факультет, Россия, Якутск, NohVasyaVas@mail.ru)*

Подобно тому, как среда обитания делится на воздух и почву, так и растительный организм состоит из двух адаптивных форм - побега и корня. Вместе с тем листья и корни физически связаны между собой, физиологически коррелируют друг с другом и представляют собой основные ассимилирующие органы растения. В связи с этим мы поставили задачу изучить взаимосвязь корень – побег на примере изменения содержания желтых пигментов в листьях 7-дневных проростков пшеницы при действии кратковременного холодового стресса на их корневую систему.

В работе использовали 7-дневные растения пшеницы сорта «Приленская-19», холодовой шок создавали путем помещения их корневой системы в термостат (MULTITEMP II 2219) с питательной средой Гельригеля (1/4 доза солей), поддерживая температуру 1⁰С, 2⁰С, 4⁰С, 6⁰С на 30 и 180 мин. Качественный и количественный состав каротиноидов анализировали методом тонкослойной хроматографии.

Изменение содержания индивидуальных каротиноидов побегов пшеницы изучали при холодовом шоке (1,2,4 и 6⁰С) корней растений в течении 30 и 180 мин. Холодовой шок (6⁰С) практически не оказывает влияние на содержание каротиноидов. Сходное действие наблюдалось и при 30-минутном воздействии низких положительных температур на корни. Однако в случае погружения в холодную питательную смесь Гельригеля (1, 2 и 4⁰С, 180 мин) корней пшеницы в побегах заметно повышалось содержание лютеина+зеаксантина (223,2; 194,7; 165,8%) и β-каротина (144,4; 242,6; 123,7%) соответственно.

Таким образом, холодовой шок корней 7- дневных растений пшеницы (30 и 180 мин) при низких положительных температурах (1, 2, 4⁰С) приводит к значительному увеличению содержания как лютеина+зеаксантина, β-каротина, так и общей суммы каротиноидов.

Наши эксперименты доказывают существование на уровне организма тесной взаимосвязи между корнем и побегом. Из представленных данных видно, что кратковременное локальное охлаждение корня вызывает повышение содержания каротиноидов в листьях 7- дневного побега пшеницы.

Работа поддержана Грантом Президента РС (Я) для студентов, аспирантов, молодых ученых и специалистов, 2011 г.

Автор выражает благодарность доктору биологических наук Петрову Климу Алексеевичу, а также кандидату биологических наук Чепалову Валентину Азовичу.

**Особенности ультраструктуры клеток суспензионной культуры
Polyscias fruticosa (L.) Harms. в связи с синтезом терпеноидов**

Соловьева Любовь Васильевна¹, Гафиятова Э.И.¹, Суханова Е.С.², Кочкин Д.В.²
¹Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Россия, Казань, ²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Россия, Москва, *Ljybava-8881@yandex.ru*

Биотехнология растений дает широкие возможности для коммерческого получения многих вторичных метаболитов из растений субтропических и тропических зон, а также исчезающих потенциально ценных лекарственных видов. Таковыми являются растения рода *Polyscias* (сем. *Araliaceae*), которые обладают целым спектром фармакологического действия благодаря содержанию тритерпеновых сапонинов. Несмотря на возможность сохранения культивируемыми клетками способности к биосинтезу многих фармакологически ценных соединений, в условиях *in vitro* могут происходить изменения вторичного метаболизма, что должно отражаться на ультраструктурной организации клеток. Полученная недавно культура клеток *Polyscias fruticosa* в этом аспекте не была изучена.

Целью работы был ультраструктурный анализ клеток суспензионной культуры *Polyscias fruticosa* в связи с синтезом тритерпеновых гликозидов.

Для электронно-микроскопических исследований материал фиксировали по общепринятой методике при переходе культуры от лаг-фазы к стационарной (8-е сутки).

Культура состояла из гетерогенных по стадиям развития клеток, объединенных в кластеры. В центре дифференцированных клеток располагалась большая центральная вакуоль, а по периферии – более мелкие литические вакуоли. В полости последних часто обнаруживались остатки цитоплазматических структур и гранулярно-хлопьевидные включения. Хондриом представлен вытянутыми, палочковидными митохондриями с небольшим количеством крист. Пропластыды плеоморфны, часть из них содержала крупные крахмальные зерна. Пластоглобулы пластид варьировали по электронной плотности. Цитоглобулы преимущественно средней электронной плотности, иногда образовывали скопления. Известно, что тритерпеноидные соединения синтезируются в цитозоле из мевалоната. Именно в этом компартменте нами дополнительно выявлялись округлые включения со сложной внутренней структурой. Липидный матрикс таких включений содержал локальные зоны, часто представленные в виде «сети» и образованные более осмиофильным веществом.

Тонкослойная хроматография спиртовых экстрактов из биомассы культуры клеток *P. fruticosa* показала наличие не менее двух тритерпеновых гликозида с Rf 0,17 и 0,28.

На основе полученных данных можно сделать вывод о том, что клетки новой линии суспензионной культуры *Polyscias fruticosa* сохраняют способность к синтезу тритерпеновых сапонинов, которые преимущественно накапливаются в клетке в структурах, являющихся производными от липидных капель цитоплазмы - цитоглобул.

Авторы выражают глубокую признательность старшему научному сотруднику Казанского института биохимии и биофизики РАН Ф.А. Абдрахимову, доценту кафедры физиологии и биотехнологии растений КФУ Й.Р. Абдрахимовой, профессору кафедры физиологии растений МГУ имени М.В. Ломоносова А.М. Носову

Регуляция 24-эпибрассинолидом экспрессии гена цитокининоксидазы в растениях пшеницы при солевом стрессе

Сомов Кирилл Александрович, Иванова К.А., Яхина Е.Р., Юлдашев Р.А.

(Учреждение Российской академии наук Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Россия, Уфа)

Ранее нами было показано защитное действие предобработки 24-эпибрассинолидом (ЭБ) на растения пшеницы в условиях натрий хлоридного засоления. Важный вклад в реализацию антистрессового действия ЭБ при засолении, по-видимому, вносит снижения концентрации

гормонов цитокининовой природы в растениях. Хорошо известен ярко выраженный протекторный эффект цитокининов в отношении стрессовых факторов, вызывающих обезвоживание. Вместе с тем, необходимо понять, что лежит в основе поддержания концентрации цитокининов в ЭБ-предобработанных растениях в условиях засоления на уровне контроля. Основываясь на том, что важную роль в регуляции содержания цитокининов играет фермент цитокининоксидаза, ответственный за процесс деградации цитокининов, нами методом ОТ-ПЦР был проведен анализ экспрессионной активности гена цитокининоксидазы в предобработанных и необработанных ЭБ проростках пшеницы в условиях натрий хлоридного засоления. В ходе экспериментов выявлено, что засоление вызывало постепенное увеличение транскрипции гена цитокининоксидазы в проростках пшеницы, чем, по-видимому, обусловлено вызываемое 2%-ным хлоридом натрия снижение концентрации эндогенных цитокининов. В то же время в предобработанных ЭБ проростках, подвергнутых засолению, уровень транскриптов гена цитокининоксидазы соответствует таковому в контрольном варианте, что, в свою очередь, коррелирует с поддержанием в этих растениях концентрации цитокининов на уровне контроля. Полученные результаты свидетельствуют о способности 24-эпибрасинолида регулировать экспрессионный статус гена цитокининоксидазы, что позволяет ЭБ контролировать количественный уровень цитокининов в растениях пшеницы при натрий-хлоридном засолении.

Индукция аутофагии в клетках корней пшеницы в условиях стеринного истощения

Сулкарнаева Альбина Гарифулловна

(Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия, Казань, albinusik_89@mail.ru)

Стерины являются важными компонентами биологических мембран, оказывающими упорядочивающее воздействие на их структуру. Важной особенностью стерinov является высокое сродство к сфинголипидам, что способствует формированию ими липидных микродоменов (рафтов), на которых локализуются сигнальные комплексы. Истощение стерinov может приводить к нарушению структуры мембранных рафтов, целостности и функциональной активности мембран и приводить в результате к гибели клеток по пути аутофагии. Аутофагия («самопоедание») клеток играет важную роль во многих физиологических процессах и поддержании гомеостаза. Аутофагия сопровождается образованием аутофагических вакуолей (аутофагосом), содержащих фрагменты цитоплазмы и органеллы.

Целью настоящего исследования явилось изучение процесса формирования аутофагосом в клетках корней пшеницы при истощении стерinov. Истощение стерinov в клетках корней достигалось действием полиенового антибиотика нистатина, который специфически связывается с эндогенными стеринами и образует в мембранах каналы, вызывая вытекание из клетки ионов, воды, аминокислот и белков. Для сравнения было взято две концентрации нистатина - 1 мкМ и 10 мкМ. Было показано, что в корнях интактных проростков пшеницы, обработанных нистатином, в течение 12 ч происходило увеличение содержания перекиси водорода, проницаемости мембран для ионов и образования аутофагосом, детектированных с применением специфического флуоресцентного красителя Lyso Tracker Red DND-99, а также снижение жизнеспособности корневых клеток. Методом ПЦР анализа в реальном времени было показано, что при 12 ч действии нистатина наблюдалась увеличение экспрессии генов пероксидаз в 6 раз по сравнению с контролем. Увеличение в 8-9 раз экспрессии аутофагических генов atg4 и atg6 происходило лишь к 24 ч действия антибиотика. Полученные результаты свидетельствуют о том, что индуцированное нистатином стеринное истощение и нарушение мембранной проницаемости клеток сопровождается окислительным стрессом и приводит к гибели клеток путем аутофагии.

Скрининг растений рода *Amaranthus*: антагонизм никеля и железа и хелатирующая роль полиаминов

Черемисина Александра Игоревна

(Учреждение Российской академии наук Институт физиологии растений
им. К.А. Тимирязева РАН, Россия, Москва, aicheremisina@mail.ru)

Использование дикорастущих растений-сверхаккумуляторов Ni для очистки загрязненных территорий препятствует их небольшая надземная биомасса, не способная обеспечить значимый с практической точки зрения вынос металлов. По этой причине возникла необходимость проведения скрининга большого числа видов растений, в том числе и представителей дикорастущих рудеральных сообществ, которые не только способны концентрировать Ni или другие ТМ, но и наращивать высокую надземную биомассу, то есть обладать выраженной стресс-толерантностью к факторам техногенного загрязнения. Одними из представителей рудеральных растений являются растения из семейства Амарантовые (*Amaranthaceae*). Гибридные семена растений рода *Amaranthus*: *A. paniculatus f. cruentus* (Вишневый джем), *A. paniculatus* (Бронзовый век) и *A. caudatus f. viridis* (Изумруд) выращивали в камере фитотрона на питательной среде Джонсона. 6-недельные растения амаранта трех гибридов подвергали действию различных доз NiCl₂: 0 (контроль), 50, 100, 150, 200, 250 мкМ на фоне низкой (2 мкМ) или высокой (100 мкМ) концентраций Fe и исследовали накопление в различных органах растения Ni и Fe, фотосинтетических пигментов и уровень окислительного стресса (СОД, МДА, пролин). Полученные данные свидетельствуют о том, что наибольшую Ni-аккумулирующую способность имел красностебельный гибрид Вишневый джем. Снижение содержания Fe в нем могло явиться следствием проявления антагонизма железа и никеля. Причиной проявления антагонизма в растениях между Ni и Fe в условиях загрязнения почв никелем может являться, в первую очередь, Ni-индуцируемый окислительный стресс, который приводит к нарушению в апопласте восстановления Fe³⁺ до Fe²⁺, а также целостности мембран и функционирования специфических белково-переносчиков Fe²⁺. Оптимальная концентрация Fe, необходимая растениям для нормального осуществления физиологических функций, находится в весьма узких пределах. Данное исследование показало, что для повышения фиторемедиационного потенциала растений для Ni и улучшения их жизнеспособности, с одной стороны, требуется поддержание в клетках гомеостаза железа, а с другой – накопление защитных метаболитов (пролина, полиаминов), способных снижать токсичность Ni.

Инициация соматического эмбриогенеза у сосны сибирской

Шуваев Денис Николаевич, Ворошилова Е.В.

(Сибирский федеральный университет, институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Россия, Красноярск, shuvaev.denis@yandex.ru)

Сосна сибирская (*Pinus sibirica* Du Tour), являющаяся одним из основных лесобразующих видов в горах южной Сибири, подвергается постоянному антропогенному воздействию. Для сохранения генофонда сосны сибирской актуально применение современных биотехнологий, позволяющих проводить массовое тиражирование высокопродуктивных форм данного вида. Одной из таких технологий является соматический эмбриогенез. Цель исследования заключалась в разработке биотехнологии получения эмбрионного каллуса (ЭК) у сосны сибирской.

Объектом исследования послужили семена, собранные у деревьев из естественного древостоя, клонов, а также гибридные семена, полученные в результате контролируемого опыления. В качестве материала для индукции ЭК были взяты изолированные зиготические зародыши сосны сибирской на стадии глобулярного зародыша, семядольного кольца и зрелых семян. Экспланты стерилизовали и в асептических условиях переносили на питательные среды MS и LV с регуляторами роста 2,4-Д и 6-БАП.

Результаты исследования показали, что в течение первого месяца культивирования на эксплантах образуется ЭК. При субкультивировании на среду LV масса ЭК, полученного от

взрослых деревьев сосны сибирской составила от 0,3 до 0,76 гр. Вес ЭК клоновых деревьев составил от 0,47 до 2,00 гр. Наиболее активный рост ЭК был отмечен для эксплантов, полученных в результате контролируемого опыления клонов, пыльцой деревьев из естественного древостоя. В данном случае масса ЭК составила от 0,80 до 3,45 гр. Цитоэмбриологический анализ каллусной массы показал, что на 7-10 сутки культивирования в ней происходили изменения. Соматические клетки удлинялись до 200 мкм и подвергались неравномерному делению, с образованием эмбриональной инициали и длинной клетки эмбриональной трубки.

Таким образом, в экспериментальных условиях был осуществлен контролируемый переход соматических клеток сосны сибирской на путь эмбриогенеза.

**Cl⁻/H⁺-обмен в мембранах клеток корня *Suaeda altissima*
Шувалов Алексей Витальевич, Орлова Ю.В.**

(Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН; Россия, Москва,
laursen1243@mail.ru)

В растениях, в отличие от других групп организмов, функционирование Cl⁻/H⁺-обмена мало изучено. Цель настоящей работы состояла в функциональной идентификации Cl⁻/H⁺-антипортера в клетках корня галофита *Suaeda altissima*. Исследование проведено на мембранной фракции, обогащенной везикулами ПМ. Мембранную фракцию получали центрифугированием суспензии микросом в ступенчатом градиенте плотности сахарозы. Перенос H⁺ через мембрану регистрировали по изменению дифференциальной абсорбции (ΔA₄₉₂₋₅₄₀) ΔpH-индикатора акридинового оранжевого (АО), и изменению параметров флуоресценции pH-индикатора пиранина, загруженного в везикулы. Генерацию отрицательного трансмембранного электрического потенциала (Δψ) внутри везикул регистрировали по изменению дифференциальной абсорбции (ΔA₅₅₄₋₅₂₄) Δψ-индикатора, сафранина О. Регистрацию дифференциальной абсорбции проводили на двухволновом спектрофотометре «Hitachi 557», а параметров флуоресценции на спектрофлуориметре «Hitachi 850». При создании на мембране концентрационного градиента Cl⁻, направленного внутрь везикул, наблюдался выход H⁺, то есть происходило защелачивание везикулярного люмена. При этом регистрировалась генерация отрицательного Δψ внутри везикул. ΔpCl-зависимое защелачивание везикулярного люмена зависело как от величины ΔpCl, так и от трансмембранного электрического потенциала. Δψ нужной величины и знака создавали соответствующим диффузионным потенциалом ионов K⁺ в присутствии валиномицина. С увеличением ΔpCl и смещением Δψ в область положительных значений защелачивание усиливалось. Наблюдаемый в экспериментах ΔpCl-зависимый перенос H⁺ через мембрану, сопровождаемый генерацией отрицательного Δψ при наложении на мембрану концентрационного градиента Cl⁻, указывает на наличие в мембране Cl⁻/H⁺-антипортера. Его физиологическая роль может заключаться в выведении Cl⁻ из цитоплазмы в экстрацеллюлярное пространство (в случае локализации в ПМ) или в вакуоль (в случае локализации в тонопласте) в условиях хлоридного засоления. Функционирование Cl⁻/H⁺-антипортера в клетках сопровождается деполяризацией ПМ, что стимулирует работу H⁺-АТФазы и снижает движущую силу пассивного транспорта Na⁺ из наружной среды в клетку.

Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00-709-а.

The role of epibrassinolide in the realization of photomorphogenetic program depending on light spectral composition

Kovtun Irina Sergeevna

(Tomsk State University, Russia, Tomsk, *kovtunirina@sibmail.com*)

The idea about participation of phytohormones in the light signal transduction had been developed recently. The key role in this process belongs to the special class of phytohormones – brassinosteroids. We studied the influence of selective light and epibrassinolide (EBL) in concentration 0,01 μM on morphogenesis, pigment content and the weight of five-day seedlings of *Arabidopsis thaliana*. The etiolated seedlings were used as a control.

The typical features of etiolated seedlings – long hypocotyls and small cotyledons. The light caused significant phenotypic changes compared with the control depending on spectral composition of light. Seedlings had short hypocotyls and big cotyledons under blue light (BL). However, under green light (GL), seedlings had phenotype partly similar to etiolated one – area of cotyledons became bigger than in control, but hypocotyls were longer. Pigment content was highest on BL in comparison with GL or darkness.

The exogenous EBL effected on seedling growth, which appeared in increase an axis organs' size under BL or GL. Especially, the response reaction of root system on hormone was more expressed in comparison with hypocotyl and cotyledons one.

Important sign of realization of light-regulated program is a photosynthetic pigment presence. The content of pigment increased under GL and decreased under BL due to exogenous EBL.

Significant increase of the wet weight was shown under GL depending of EBL presence. Under BL and in darkness observed the same effect of hormone, but less pronounced. The stimulative effect of EBL on the storage of the dry weight was shown in the dark and under BL.

So, in these experiments was shown the influence of exogenous EBL on development of five-day seedlings and the physiological effect of green light was noted.

The research was supported by Federal Agency of Education (State Contract no. P1369).

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

Изучение алкалоидного комплекса *Nymphaea candida* Баланда Оксана Владимировна

*(Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
факультет Экологии и Биотехнологий, Украина, Киев, russorok@ukr.net)*

Известно, что алкалоидоносные растения составляют примерно 10% мировой флоры. Наземным алкалоидоносам посвящено множество научных работ, водным - внимания уделено значительно меньше. Хорошо изученными в этом плане являются растения рода *Nuphar*. Все известные алкалоиды кубышки близки по своему строению, в их основе лежит полный или частично развернутый хинолизидиновый цикл, один кислород входит в состав фуранового кольца, а другой, если он есть в алкалоиде, в гидроксильную группу. Необходимо отметить, что соединения этого класса обладают специфическим, зачастую уникальным физиологическим действием, именно поэтому водные алкалоидоносы являются перспективным сырьем для производства биологически активных веществ, которые могут быть использованы в фармакологии, а также при разработке препаратов для борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных растений.

Алкалоиды из корневищ *Nymphaea candida* J. et C. Presl. и *Nuphar lutea* (L.) Smith. после экстракции разделяли с помощью хромато-масс-спектрометрии. Исследования проводили на "Waters Integrity System": последовательно соединенных жидкостного хроматографа, диодно-матричного (PDA) и масс-спектрометрического (MS) детекторов. Система имеет "particle beam" интерфейс, который разработан для проведения идентификации нелетучих соединений, которая проблематична или невозможна на традиционных газовых хромато-масс-спектрометрах.

На традиционном газовом хромато-масс-спектрометре нами было исследовано спектры веществ алкалоидной природы из *Nymphaea candida* и *Nuphar lutea*. В спектре *Nuphar lutea*. идентифицированы такие алкалоиды как: неотииобинуфаридин, дезоксинуфаридин, 6-гидроксистиобинуфаридин. Анализ спектра *Nymphaea candida* оказался невозможным так как алкалоидов этого растения нет в библиотеке масс-спектров. Поэтому для идентификации алкалоидного спектра *Nymphaea candida* мы провели сравнительный анализ данных соединений с уже изученным алкалоидным спектром *Nuphar lutea*. Таким образом, была получена хроматограмма веществ из корневищ *Nymphaea candida* состоящая из 13 пиков. Масс-спектры каждого из пиков свидетельствуют об общей природе всех 13 веществ, большинство из них являются изомерами.

Дезоксинуфаридин и неотииобинуфаридин выявлены в алкалоидных спектрах как *Nymphaea candida*, так и *Nuphar lutea*. Разница анализа состоит в том, что *Nymphaea candida*

содержит также касторамин и (+,-)-3-эпинуфарамин и комплекс нераспознанных изомеров алкалоидной природы, которые не выявлены в *Nuphar lutea*.

Анализ накопления Ni в растениях-гипераккумуляторах и исключателях из рода *Alyssum* L.

Бакланов Илья Андреевич

(Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Россия, Москва)

Разные виды растений различаются по устойчивости к действию тяжелых металлов и способности к их накоплению. По классификации, предложенной Brooks (1977), выделяют две основные группы растений: исключатели, накапливающие металлы преимущественно в подземных органах, и аккумуляторы, способные накапливать их в побеге. Небольшую группу среди аккумуляторов составляют гипераккумуляторы, накапливающие, в случае Ni, более 1000 мкг/г сухой массы.

Целью работы являлся анализ накопления Ni в растениях-гипераккумуляторах и исключателях. Объектами исследования были растения из рода *Alyssum* L.: гипераккумуляторы *A. lesbiacum* и *A. obovatum* и исключатели *A. saxatile ssp. saxatile* и *A. saxatile ssp. orientale*. Растения выращивали в факторостатной камере на водной культуре в течение двух месяцев: первый месяц – на ¼ растворе Хогланда; второй месяц – на том же растворе в присутствии различных концентраций нитрата никеля (10-1000 мкМ для гипераккумуляторов, 3-50 мкМ для исключателей). Контролем служили растения, выращенные в отсутствие Ni. О накоплении металла в различных органах растений (листья, стебли, корни) судили по результатам количественного анализа, проведенного методом атомно-адсорбционной спектрометрии.

Было установлено, что гипераккумуляторы, по сравнению с исключателями, способны расти и развиваться без видимых проявлений токсического действия Ni в присутствие высоких концентраций металла (до 600 мкМ). У гипераккумуляторов Ni накапливался преимущественно в побеге, в корнях его было меньше. У гипераккумулятора *A. lesbiacum* Ni накапливался в больших концентрациях, по сравнению с *A. obovatum*. У *A. lesbiacum* накопление металла происходило главным образом в стеблях, у *A. obovatum* – в листьях. С увеличением концентрации Ni в среде выращивания гипераккумуляторов увеличивалось его накопление. У исключателей Ni накапливался в корнях и присутствовал в надземных органах в меньших количествах.

Таким образом, растения-гипераккумуляторы проявляют более высокую устойчивость к действию Ni, чем растения-исключатели. Как различные гипераккумуляторы, так и различные исключатели из рода *Alyssum* отличаются по устойчивости к Ni и способности накапливать этот металл.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ 11-04-00513.

Исследование возможности синтеза фенольных соединений растениями брусники и клюквы в условиях *in vitro*

Берзина Екатерина Васильевна, Хусаинова М.Ф.

(Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Россия, Нижний Новгород, berezina_ek@52.ru)

Введение растений в культуру *in vitro* приводит к изменениям в их метаболизме. Изучать это явление для клюквы и брусники важно, т.к. данные растения имеют большое пищевое значение, обладают широким спектром действия на организм. Цель работы – сравнить содержание общих растворимых фенольных соединений (ОРФС), флавонолов (Фл) в листьях интактных, стерильных растений и каллусах брусники и клюквы.

Объекты исследования: брусника обыкновенная (*Vaccinium vitis-idaea* L.), клюква болотная (*Oxycoccus palustris* Pers., сорт Алая заповедная), клюква крупноплодная (*O. macrocarpus* (Ait.) Pers., сорта Ранний черный (РЧ), Стивенс, Ховес). Стерильные растения выращивали на питательной среде Андерсона, каллусы – на WPM и Андерсона с фитогормонами: НУК/кинетин; НУК/БАП; 2,4-Д/кинетин; 2,4-Д/БАП (по 0.5 мг/л); содержание фенолов определяли спектрофотометрически (UV-1700 (Shimadzu)).

Анализ стерильных растений и каллусов показывает сохранение способности синтезировать фенолы. Содержание ОРФС (мг/г сырой массы) в листьях пробирочных растений брусники – 103, клюквы крупноплодной – 71-88 в зависимости от сорта, болотной – 24. Для пробирочных растений брусники уровень ОРФС в два раза выше, чем для интактных в период цветения, но несколько ниже, чем в период плодоношения; для клюквы отмечено его снижение в 1.4-1.9 раз. В каллусах содержание ОРФС существенно уступает листьям интактных растений: максимум – 35 мг/г сырой массы (сорт Стивенс, WPM, НУК/БАП). Содержание Фл *in vitro* у брусники, клюквы болотной, крупноплодной сортов Стивенс и Ховес снижается, у сорта РЧ остается на прежнем уровне. Доля Фл в ОРФС для клюквы крупноплодной не изменяется (49-58%), для остальных растений уменьшается (с 53% до 18% (брусника), с 50% до следовых количеств (клюквы болотная). Максимум Фл в каллусах клюквы крупноплодной превышает их содержание в пробирочных растениях, но уступает листьям интактных; в целом, их доля – от 0% до 97% (в зависимости от среды).

Выявленное сохранение синтеза фенолов *in vitro* свидетельствуют о высоком биосинтетическом потенциале пробирочных растений и каллусов клюквы и брусники, что в перспективе делает возможным их использование для получения ценных веществ фенольной природы в промышленном масштабе.

Влияние гриба рода *Trichoderma* на устойчивость растений

Валиулина Альбина Фаритовна, Долинская Е.В.

(Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии, Россия, г. Красноярск
valiulina1988@mail.ru)

В природе существуют определенные динамические взаимоотношения между растительными организмами и микрофлорой прикорневой зоны растений. Жизнедеятельность растений зависит от соотношения фитопатогенов и их антагонистов в почве, которое влияет на ростовые процессы. Значительный ущерб развитию растений в условиях Сибири наносят грибы рода *Fusarium*. Однако существуют микроорганизмы, сдерживающие развитие патогенной микрофлоры - это грибы рода *Trichoderma*, которые вырабатывают вещества пептидной природы и таким образом способны оказывать стимулирующее действие на рост и развитие растений.

В качестве объектов исследования использовали растения пшеницы районированного сорта Омская-32 и микромицеты штаммов Z3-06 *Fusarium sporotrichioides*, M99/5 *Trichoderma asperellum*. Семена заражали грибом рода *Fusarium*, а часть семян опудривали спорами гриба-антагониста рода *Trichoderma*.

Грибы рода *Fusarium* оказывали ингибирующее действие на все физиолого-морфологические параметры, под его действием снижался рост и развитие растений, резко уменьшалось количество основных метаболитов таких как белки и углеводы, нарушался транспорт электронов. Ингибирующее действие данного патогена проявлялось уже на ранних стадиях развития растения, под его влиянием уменьшалась энергия прорастания и всхожесть семян, увеличивалась зараженность растительного организма. Однако внесение гриба рода *Trichoderma* снимало ингибирующее действие патогена. *Trichoderma* стимулировала накопление белков и углеводов, под ее влиянием увеличивалось содержание хлорофилла *a* и *b*.

Таким образом, грибы рода *Trichoderma* проявляли свою активность в экстремальных условиях, и как показали исследования данный антагонист оказывал двоякое действие: с одной стороны, влиял на патоген, снимал его ингибирующий эффект, тем самым благоприятно действовал на растение; с другой стороны, взаимодействуя с корнем растения, проникал в его слои и включался в метаболизм и стимулировал накопление белков и углеводов.

Изучение осеннего старения ассимиляционных органов березы с помощью спектроскопии отражения в условиях Кольского Заполярья

Кизеев Алексей Николаевич

(Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А. Аврорина Кольского научного центра РАН, Россия, Анапты, aleksei.kizeev@mail.ru)

Осеннее старение растений сопровождается изменениями в содержании и составе пигментов, определяющих окраску листьев. Изменение цвета листьев связано с трансформацией хлорофиллов и каротиноидов, которые являются доминирующими пигментами и принимают непосредственное участие в фотосинтезе. В последнее время привлекательным является возможность анализа пигментов растений *in vivo* с использованием метода спектроскопии отражения. Целью данной работы являлось изучение изменений, происходящих в пигментном комплексе ассимиляционных органов растений березы в ходе осеннего старения по спектрам отражения интактных тканей.

Объектом исследований послужили листья березы повислой (*Betula pendula* Roth.) и березы пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.), произрастающей в естественных условиях в Мурманской области. Исследования проводили с сентября по ноябрь 2010 г. Измерение спектров отражения в видимой области (400-700 нм) для листьев березы осуществляли с помощью портативного оптоволоконного рефлектометра (OceanOptics, США), после чего спектрофотометрически определяли содержание хлорофиллов и каротиноидов.

В результате проведенной работы были получены данные о коэффициентах отражения и о содержании пигментов в листьях березы. Выявлены области спектра с максимальной чувствительностью коэффициентов отражения к содержанию искомым пигментов. В ходе осеннего старения листьев березы было отмечено повышение отражения в красной области спектра вследствие деградации хлорофиллов, тогда как отражение в синей области спектра повышалось незначительно, из-за сохранения каротиноидов, выполняющих защитную функцию. Также были установлены зависимости между рядом спектральных индексов и содержанием пигментов, что дает возможность проследивать относительные изменения между пигментами в процессе старения листьев. Применение метода спектроскопии отражения и оценка соотношений между хлорофиллами *a* и *b*, а также между хлорофиллами и каротиноидами помогли выявить и охарактеризовать отдельные этапы и темпы старения листьев березы.

Содержание антиоксидантов фенольного типа в лекарственных растениях Ботанического сада РГУ им. И. Канта

Масленников Павел Владимирович

(Российский государственный университет им. И. Канта, факультет Биоэкологии, Россия, Калининград, pashamaslennikov@mail.ru)

Лекарственные растения составляют особую группу объектов исследования, благодаря высокой биологической активности, с одной стороны, и практической неизученности накопления в них низкомолекулярных антиоксидантов, с другой. Показательно, что в последние годы отношение клиницистов к лекарственным растениям кардинальным образом изменилось: подчеркивается важность последних в сохранении и поддержании здоровья населения. Показано, что лекарственные растения являются важным источником поступления биологически активных веществ (БАВ) и природных антиоксидантов для организмов высших трофических уровней, в том числе и человека. В этой связи, поиск и исследование перспективных природных источников веществ, обладающих антирадикальной и антиоксидантной (АОА) активностью, является весьма актуальной задачей. Исследовалось суммарное содержание антиоксидантов фенольного типа в листьях 67 видов лекарственных растений, произрастающих в Ботаническом саду РГУ им. И. Канта. Содержание водорастворимых антиоксидантов определялось амперометрическим методом на приборе «Цвет Яуза 01-ААА» по методике Яшина Я.И. В результате проведенной работы было установлено, что максимальный уровень антиоксидантов фенольного типа был характерен для листьев растений мяты перечной ($14,8 \pm 1,1$ мг/г), левзеи сафлоровидной ($11,5 \pm 0,9$ мг/г), вероники длиннолистной ($7,8 \pm 0,5$ мг/г), душицы обыкновенной ($6,5 \pm 0,4$

мг/г), многоколосника фенхельного (5,6±0,3 мг/г), монарды двойчатой (5,5±0,3 мг/г). Из 6 видов с максимальным уровнем водорастворимых антиоксидантов 5 видов относятся к семейству губоцветные (*Lamiaceae*), 1 вид к семейству норичниковые (*Scrophulariaceae*). В листьях алтея лекарственного, расторопши пятнистой, зверобоя обыкновенного, окопника лекарственного, дрока красильного, переступеня двудомного, водосбора обыкновенного, шлемника байкальского, шалфея лекарственного, кровохлебки лекарственной, герани кроваво-красной, бузины травянистой, подофилла Эмоди, лаконоса американского, спаржи лекарственной содержание фенольных антиоксидантов составило в среднем 0,95-4,2 мг/г сухого веса. В листьях 46 видов лекарственных растений (30 семейств) АОО составила – 0,06-0,83 мг/г. Сравнительный анализ АОО лекарственных растений позволил выявить виды с высоким содержанием антиоксидантов фенольного типа, которые можно рекомендовать для сбора в качестве источников природных антиоксидантов.

Морфобиологические характеристики и продуктивность пшениц.

Николаева Юлия Евгеньевна

*(Академия наук Таджикистана Институт физиологии растений и генетики,
Таджикистан, Душанбе, ovod2004@mail.ru)*

Целью работы: явилось изучение некоторых морфобиологических признаков ряда сортов пшеницы выращенных в условиях Таджикистана, для выявления высокопродуктивных сортов. Сорта пшеницы взятые из коллекции Института физиологии растений и генетики АН РТ. Растения выращивались на опытном участке Института физиологии растений и генетики в 2007-2010 годах. Хлорофилл определялся по методике, предложенной Ермаковым, с использованием спектрофотометра СФ-26.

Содержание хлорофилла определялось в фазе начала колошения. Сорт Навруз хлорофилл *a* - 76,91 мг/100 г, хлорофилл *b* - 46,97 мг/100 г. 2-ой сорт Сомони хлорофилл *a* - 74,42 мг/100 г хлорофилл *b* - 41,03 мг/100 г. 3-ий сорт Шамь хлорофилл *a* 116,58 мг/100 г, хлорофилл *b* - 58,52 мг/100 г. 4-ый сорт Ватан хлорофилл *a* - 74,47 мг/100 г, хлорофилл *b* - 45,07 мг/100 г. Сорт 5-ый Кауз хлорофилл *a* - 56,47 мг/100 г, хлорофилл *b* - 36,8 мг/100 г. По весу зерен и по их количеству всех превосходит сорт Шамь. Он также лидирует по массе соломы. Фенотипически у сорта Шамь более толстые стебли и колосья, большее количество колосков. Второй по продуктивности идет сорт Ватан у него самый длинный колос. Затем сорта Навруз и Сомони. Самый длинный стебель наблюдается у сорта Навруз, однако у него небольшая масса соломы из чего можно заключить, что сорт склонен к полеганию. Менее продуктивным является сорт Кауз. Наследования количественных признаков было проверено на протяжении трех лет на одной и той же делянке. В связи с этим перспективными представляются сорта Шамь и Ватан. Шамь как сорт с толстым и не полегающим стеблем, Ватан как сорт с длинным колосом. Содержание хлорофилла высокое у сорта Навруз немного меньше у сортов Сомони и Ватан, затем следует Кауз.

Содержание хлорофилла определяет относительную продуктивность растения. Как свидетельство этого мы видим пониженный уровень его у самого непродуктивного сорта. Содержание хлорофилла у самого продуктивного сорта Шамь высокое. У сорта Ватан содержание хлорофилла вполне высокое, что говорит о его перспективном применении в дальнейшей работе для выведения новых сортов.

Определение количественного содержания флавоноидов в лекарственных растениях Центральной Якутии

Сидорова Розалия Николаевна

*(Северо-Восточный Федеральный университет им. М.К. Амосова, Биолого-
Географический факультет, Россия, Якутск, alsironi@mail.ru)*

В условиях дороговизны синтетических препаратов актуальным является изучение и применение лекарственных средств природного происхождения. Среди биологически активных веществ (БАВ), выделенных, из растений большой теоретический и практический интерес представляют фенольные соединения, в частности флавоноиды. Для флавоноидов выявлено свыше 40 видов их биологического действия. Это обусловлено в

основном тремя причинами: антиоксидантным действием, мембраностабилизирующей способностью и многообразием влияния на ферментные системы. Обладая разнообразным биологическим действием, флавоноиды практически нетоксичны. Биохимические и физиологические особенности растений формируются под воздействием условий произрастания. Как известно, экстремальные экологические условия Якутии способствуют повышенному синтезу БАВ в растениях этого региона. На основании вышеуказанного целью работы является определение количественного содержания флавоноидов в лекарственных растениях Центральной Якутии.

В качестве объектов исследования выбраны наиболее используемые и распространенные лекарственные растения: *Betula platyphylla* Sukacz *Vaccinium vitis-idaea* L., *Sandisiorba officinalis*, *Tanacetum vulgare* L., *Achillea millefolium*, *Plantago major* L., *Rosa acicularis* Lindl. Определение суммы флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом. Наибольшее содержание флавоноидов наблюдается в кровохлебе лекарственной, тысячелистнике обыкновенном, пижме обыкновенной, подорожнике большом, произрастающих в Чурапчинском районе. В результате определения количественного содержания флавоноидов в растениях по морфологическим группам наибольшее накопление флавоноидов наблюдается в надземных органах по убывающей: в цветках> листьях>стеблях. По данным ИК-спектров установлен одинаковый флавоноидный состав у пижмы обыкновенной и подорожника большого. Методом ТСХ установлено, что основным компонентом флавоноидной фракции исследуемых растений является рутин.

Влияние острого γ -облучения на физиолого-биохимические показатели проростков семян костреца безостого в поколениях

Свинобоева Надежда Владимировна, Шейн А. А.

(ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова»,
Российская Федерация, Россия, Якутск, *nadenka_87@mail.ru*)

Изучение адаптивного потенциала кормовых растений, произрастающих в экстремальных условиях Центральной Якутии, является одной из задач определения границ выживаемости растений, включая выявление оптимальных значений физиолого-биохимических показателей. Цель работы заключается в изучении физиолого-биохимических показателей костреца безостого в поколениях в ответ на действие острого γ -облучения.

В работе использованы семена костреца безостого (*Bromopsis inermis*), подвергшиеся предпосевному γ -облучению. Физиологические критерии - энергия прорастания семян и всхожесть проростков, биохимическими – содержание низкомолекулярных антиоксидантов (НМАО), малонового диальдегида (МДА), хлорофиллов и каротиноидов, а также активность фермента пероксидазы.

По результатам экспериментальных данных выявлено, что независимо от дозы предпосевого облучения, степени солонцеватости/зашелоченности почвы и года сбора семян наблюдается четкая тенденция роста показателя общего содержания НМАО (в 1,5–1,9 раз), увеличение активности пероксидазы (до 1,9 раз) и снижение интенсивности процессов перекисного окисления липидов (в 1,1–1,2 раза), по сравнению со значениями для контрольных семян, взятых для проращивания в грунте.

На протяжении 2006–2008 гг. концентрация МДА сохранялась на уровне $\approx 8,40$ ммоль/г ткани. В условиях повышения засоления и защелоченности почв наблюдалось снижение всех изученных показателей, что связано с изменением стратегии поведения костреца безостого – сбалансированность антиоксидантно-прооксидантного статуса при меньших энергетических затратах, при этом способность проходить полный физиологический цикл развития растений позволяет утверждать о закреплении в поколениях семян F1-F3 биохимической адаптивной ответной реакции на действие физико-химических факторов среды.

Оптимизация микрклонального размножения ценных сортов *Syringa vulgaris* L.

Сошинкова Татьяна Николаевна, Гурьянова А.Ю.

(Институт Физиологии Растений им. К.А.Тимирязева РАН, Россия, Москва,
soshinkova@mail.ru, crispa-orange@mail.ru)

К роду *Syringa* относится около 30 видов, распространенных в Юго-Восточной Европе и в Азии, преимущественно в Китае, в диком виде. Сирень обыкновенная имеет ряд декоративных форм, благодаря чему нашла широкое применение в озеленении городских территорий. Известно, что сортовая сирень плохо размножается традиционными методами - черенкованием, прививанием. Альтернативным способом размножения и поддержания генофонда ценных сортов является микрклональное размножение. Целью данной работы была оптимизация микрклонального размножения, начиная от этапа введения в культуру *in vitro* ценных сортовых генотипов сирени до укоренения полученных черенков. В работе нами были использованы следующие сорта сирени: Красавица Москвы, Сенсация, Эсселент, Моник Лемуан. Для оздоровления посадочного материала от вирусов в качестве эксплантов нами были выбраны изолированные почки растений. В ходе работ по введению в культуру были использованы различные способы стерилизации эксплантов, время экспозиции в стерилизующем растворе. Наиболее оптимальным оказалось использование 6% раствора гипохлорита натрия, подобрано время экспозиции – 6 минут. Изолированные почки стебля, взятые с 20-летних растений со средней части кроны, после стерилизации помещали в чашки Петри на питательные среды. На первом этапе нами было использовано 4 варианта питательных сред: MS, ½ MS, DCR, WPM с добавлением цитокинина - БАП в диапазоне концентраций от 0,01 мг/л до 1 мг/л. Лучшие результаты наблюдались на средах DCR и WPM с концентрацией гормона 0,5 мг/л. На этапе укоренения полученных черенков (ризогенеза) использовались среды с различными комбинациями сахарозы, витаминов и гормонов. Почти 95% образование корней наблюдалось на среде DCR с содержанием ауксина НУК до 1 мг/л или без добавления гормона. Для всех этапов были подобраны наиболее оптимальные составы сред и концентрации гормонов, причем скорость пролиферации, накопление биомассы для разных сортов на одних и тех же вариантах сред была строго индивидуальна.

Таким образом, нами был оптимизирован метод микрклонального размножения различных сортов сирени, который может быть использован для промышленного культивирования *in vitro* ценных сортовых генотипов.

Оценка краснолистных и зеленолистных клоновых подвоев яблони и сорто-подвойных комбинаций по ряду хозяйственно-биологических показателей

Трутнева Людмила Николаевна

(Мичуринский государственный аграрный университет, Плодоовощной институт имени И.В. Мичурина, Россия, Мичуринск, trutneval@mail.ru)

Известно, что антоцианы обладают ценными биологически активными свойствами: Р-витаминной активностью, антиоксидескими, фотопротекторными, антиоксидантными свойствами. Антоцианы защищают растения от ультрафиолетовой радиации, способствуют повышению зимостойкости и морозостойкости, засухоустойчивости и жаростойкости, лучшей укореняемости, устойчивости к выпреванию, к некоторым болезням и вредителям.

Изучали содержание антоцианов по методике Соловьевой М.А., содержание хлорофилла по Годневу Т.В., жаростойкости в соответствии с «Программой и методикой сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур», устойчивости к парше, мучнистой росе, зеленой яблонной тле по методике Дементьевой М.И. у краснолистных (парадизка Будаговского (ПБ), 60-160, 62-396) и зеленолистных (зеленолиственный мутант парадизки Будаговского – ПКЗ, 71-7-22, зеленолиственный мутант подвоя 62-396) слаброслых клоновых подвоев яблони, а также у привитых на них сортов Антоновка обыкновенная, Мелба, Коричное полосатое.

В результате исследований выявлено более высокое содержание антоцианов у краснолистных подвоев и сортов, привитых на них. По хлорофиллу не отмечено четкой закономерности. Сорта на краснолистом подвое парадизка Будаговского имели меньшее его количество в отличие от ее зеленолиственного мутанта ПКЗ. У сортов, привитых на

краснолистный подвой 60-160, было больше хлорофилла, чем у зеленолистного подвоя 71-7-22. Менее жаростойкими оказались сорта на зеленолистных подвоях и сами подвои. Исследования устойчивости к парше, мучнистой росе, зеленой яблонной тле показали преимущества краснолистных подвоев и сортов, привитых на них.

Таким образом, краснолистные подвои и сорта, привитые на них, содержат больше антоцианов, более жаростойки и устойчивы к болезням и вредителям. Сорта на краснолистом подвое ПБ содержат меньше хлорофилла по сравнению с ПКЗ, а сорта, привитые на 60-160, имеют больше хлорофилла по сравнению с 71-7-22.

Сравнение количества фенольных соединений у клюквы болотной и крупноплодной

Хусаинова Мария Фагимовна, Березина Е.В.

(Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Россия, Нижний Новгород, khusainova_maria@mail.ru)

В работе проведено сравнение количества фенолов в листьях клюквы болотной и крупноплодной (окультуренный вид, эндемик Северной Америки) в разные периоды вегетации. Представители рода *Oxycoccus* Hill (1756) находят применение в промышленной и хозяйственной деятельности человека, широко используются в производстве лекарственных препаратов и биологически активных добавок во многом благодаря фенолам, которыми богата клюква. Цель работы – сравнение двух видов клюквы по содержанию фенольных соединений в период цветения и плодоношения.

Объекты исследования – клюква крупноплодная (сорта Ранний черный (РЧ), Стивенс, Ховес) (Ботанический сад ННГУ), клюква болотная (Пустынский заказник). В листьях определяли общие растворимые фенольные соединения (ОРФС) и флавонолы (Фл) спектрофотометрически (UV-1700 (Shimadzu)).

В период цветения сорта крупноплодной клюквы Стивенс, Ховес, РЧ обладали наибольшим количеством ОРФС (мг/г сырой массы): 131,7; 123,2; 125,2 соответственно (статистически не различимы при $p \leq 0,05$). При плодоношении уровень фенолов в листьях клюквы сортов Стивенс, Ховес понизился до 116,2 и 105,7 соответственно; у сорта РЧ подобных изменений не наблюдали. Для клюквы болотной содержание ОРФС при цветении было наименьшим – 28,2 мг/г с.м., при плодоношении оно повышалось до 95,4 мг/г с.м. Уровень флавонолов в листьях культурного вида больше, чем у дикорастущей клюквы как при цветении, так и при плодоношении. При этом, количество Фл при плодоношении повышалось у всех исследуемых растений: у клюквы крупноплодной в 1,5-2 раза, у болотной – в 6 раз. При цветении Фл составляли 49-58% от ОРФС у клюквы крупноплодной, а при плодоношении их доля возрастала до 87-95%. В то время как для клюквы болотной при переходе от цветения к плодоношению доля Фл увеличилась с 32 до 63%.

Таким образом, наибольшее количество ОРФС и Фл в листьях при цветении и плодоношении имеет клюква крупноплодная, наименьшее – болотная. В период цветения в ее листьях содержится в 3-6 раз, а в период плодоношения в 1,5-2 раза меньше ОРФС и Фл по сравнению с культурным видом. Также установлено увеличение уровня флавонолов в листьях в период плодоношения. Вероятно, количественное увеличение фенольных соединений у дикорастущего вида при переходе от цветения к плодоношению является приспособлением для более сложных условий обитания.

Comparative analysis of *in vitro* free radical scavenging activity and total flavonoid content in Abkhazian and Armenian *Laurus nobilis* leaf extracts

Hovhannisyan Davit Genrievich, Rukhkyan M., Martirosyan A.

(Russian-Armenian (Slavonic) University, Faculty of Biomedicine, Yerevan, Armenia, raubioinf@gmail.com)

Laurus nobilis Linn. (*Lauraceae*) is an aromatic evergreen tree native to the Mediterranean region. Leaves of *L. nobilis* are used as a spice and in folk medicine. In Caucasus laurel is widely cultivated in regions with maritime climates such as the coastal region of Georgia or Abkhazia.

However, recently the cultivation of laurel also has been started in Armenia in north of Tavush province (Noyemberyan) which borders with South Georgia.

In the present study we carried out a comparative analysis of the free radical scavenging activity of ethanol and aqua extracts of *L. nobilis* with simultaneous monitoring of the total flavonoid content. Free radical scavenging capacity was evaluated measuring the scavenging activity on the DPPH radical. The flavonoids content in examined extracts was studied using AlCl_3 assay.

All of the extracts in this research exhibited different extent of antioxidant activity. The result showed that the ethanol leaf extract of *L. nobilis* from Abkhazia, which contain highest amount of flavonoids (1 ± 0.045 mg flavonoid/g sample), exhibited the greatest antiradical activity (IC_{50} : 0.9 ± 0.05). We have also found the relationship of total flavonoid contents with antiradical activity. Thus, flavonoids may play an impotent role in radical scavenging activity of *L. nobilis* leaf extracts. In the longer term, bay leafs from Abkhazia identified as having high levels of antioxidant activity *in vitro* may be of value in the design of further studies to unravel novel treatment strategies for disorders associated with free radicals induced tissue damage.

ПОДСЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Функциональная связь экспрессии сигнальных белков апоптоза и свободнорадикальных процессов в гипоталамусе мышей на разных этапах онтогенеза *Азизова Юлия Владимировна*

(Астраханский государственный университет, Россия, Астрахань, abatnina@mail.ru)

За последние годы накоплен большой опыт в изучении апоптоза гипоталамо-адренкортикальной системы млекопитающих, системы, играющей ведущую роль в реализации адаптивных функций. Вместе с тем, сведения о динамике апоптоза в нейроэндокринной системе на инволюционном этапе онтогенеза нередко противоречивы. В наших исследованиях, мы изучали уровень апоптоза в нейроэндокринной системе гипоталамуса (супраоптическое, паравентрикулярное ядра). С помощью иммуногистохимических реакций в нейросекреторных клетках (НСК) гипоталамуса мышей определены белки-индукторы (*Bax*, *p53*) и ингибиторы апоптоза (*Bcl-2*, *Mcl-1*), что позволило выявить реактивность крупноклеточных нейроэндокринных центров к апоптоз-провоцирующему стрессу водной депривации и стресс-протекторного фактора - альфа-токоферола на раннем и позднем этапах постнатального онтогенеза. Кроме того, с использованием биохимических методик определен уровень перекисного окисления липидов в тканях гипоталамуса.

У молодых мышей стресс вызывает рост апоптоза, в результате увеличения синтеза проапоптотического белка *Bax* и снижение экспрессии антиапоптотических белков семейства *Bcl-2* в нейронах гипоталамуса. Альфа-токоферол при дегидратации снижает уровень апоптоза и синтез *Bax*, инициируя при этом экспрессию *Bcl-2*. У старых мышей уровня апоптоза НСК не изменялся при стрессе, так как изначально уровень апоптоза был завышен по сравнению с молодыми, экспрессия проапоптотического белка *p53* увеличена, синтез *Bax* и антиапоптотических белков *Bcl-2* и *Mcl-1* уменьшен. Сопоставимые с терапевтическими дозы альфа-токоферола у старых животных вызвали снижение апоптоза при дегидратации вследствие супрессии белка *p53*.

Таким образом, найдена функциональная связь экспрессии сигнальных белков апоптоза с антиоксидантным статусом организма. Показана прямая связь активации проапоптотических механизмов с индукцией апоптоза и свободнорадикального окисления при стрессе в исследуемых ядрах гипоталамуса на раннем и позднем этапе постнатального онтогенеза. Апоптоз-протекторный эффект альфа-токоферола, наблюдаемый при стрессе, имеет выраженную зависимость от стадии онтогенеза и базируется на более быстром, чем у старых, включении компенсаторных механизмов (снижение синтеза проапоптотических белков *p53*, *Bax* и увеличение экспрессии антиапоптотического белка *Bcl-2*) у молодых животных.

Участие разных подтипов P2Y - пуринорецепторов в сократимости миокарда крыс в постнатальном онтогенезе

Анисимова Ирина Николаевна

(Татарский государственный гуманитарно-педагогический университет, Россия, Казань, Irina171185@rambler.ru)

Известно, что пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды находятся в везикулах вместе с основным медиатором, участвуют в передаче нервных импульсов, выполняя функции котрансмиттера. УТФ, как и АТФ выделяется из кардиомиоцитов и гладкомышечных клеток сосудов при различных физиологических и патофизиологических условиях. Наличие внеклеточной УТФ считается доказанным, так как некоторые подтипы P2Y-пуринорецепторов активируются урациловыми нуклеотидами.

Регистрировали изометрическое сокращение полосок миокарда предсердий и желудочков крыс 21- (поздний молочный период) и 100-суточного (половозрелые животные) возраста на установке «PowerLab» с соблюдением биоэтических правил.

Изучали влияние УТФ, агониста P2Y₂-, P2Y₄- и P2Y₆ подтипов рецепторов на сократительную активность миокарда. УТФ в концентрации 10⁻⁶-10⁻¹⁰М снижает силу сокращения миокарда во всех возрастных группах. Концентрации внеклеточной УТФ, близкие к физиологическим вызывают больший ингибирующий эффект инотропии сердца у 21- и 100- сутокных животных, по сравнению с 7-суточными.

У 21- и 100- сутокных крыс после инкубации миокарда предсердий и желудочков блокаторм P2Y₄ подтипа пуринорецепторов реактивом голубым-2, отрицательный инотропный эффект УТФ не сохраняется. Снижение инотропии может, наблюдается при возбуждении P2Y₂ и P2Y₄ – подтипа рецепторов, которые активируются УТФ и связаны с Gi/o белком, который ингибирует аденилатциклазу, снижает образование цАМФ и уменьшает поступление Ca²⁺ в клетку, вызывая уменьшение сократимости миокарда.

Добавление агониста на фоне блокады P2Y₄ подтипа рецепторов не вызывает снижения сократимости миокарда, что говорит об участии этого подтипа рецепторов в реализации ингибирующего эффекта, вызванного УТФ, что подтверждается данными иммуногистохимического анализа указывающих на локализацию P2Y_{1,2,4,6,11,13}- рецепторов в сердце крыс.

Особую благодарность за помощь в написание данной работы выражаю своему научному руководителю – д.б.н., профессору Аникиной Татьяне Андреевне.

Роль гуанилатциклазы в эффектах оксида азота в нервно-мышечном синапсе мышы

Валиуллина Флиза Фаритовна, Герасимова Е.В.

*(Казанский (Приволжский) федеральный университет, Биолого-почвенный факультет,
Россия, Казань, fliza8080@mail.ru)*

NO относится к классу газообразных посредников, синтезируемых в физиологических условиях и участвующих в расслаблении гладких мышц. Было показано, что NO модулирует освобождение медиаторов в центральной и периферической нервной системе в условиях как *in vitro*, так и *in vivo*. В двигателем нервом окончании лягушки NO угнетает спонтанную и вызванную секрецию медиатора и модифицирует работу потенциал-зависимых и кальций-активируемых калиевых каналов. Данные о влиянии NO в нервно-мышечном синапсе теплокровных животных противоречивы. Целью работы было исследование эффектов NO на освобождение медиатора в нервно-мышечном синапсе мышы и роли гуанилатциклазы в механизмах его действия.

Эксперименты проводили на изолированном нервно-мышечном препарате диафрагмы лабораторных белых мышы в условиях постоянной перфузии стандартным раствором Кребса. Для предотвращения сокращения мышц использовали d-тубокурарин в концентрации 2-2,5 мкМ. Токи концевой пластинки (ТКП) регистрировали с помощью внеклеточных электродов, заполненных раствором NaCl (2М). Полученные результаты обрабатывали с помощью стандартных методов.

Апликация экзогенного донора NO S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP) в концентрации 100 мкМ снижала амплитуду ТКП до 27,8±7,5% (n=5, p<0,05) относительно контроля. Максимальный эффект достигался к 20-30 мин эксперимента. Известно, что действие NO в небольших концентрациях связано с влиянием на гемовую группу растворимой (цитозольной) формы гуанилатциклазы. Активация гуанилатциклазы приводит к быстрому повышению уровню цГМФ (в течение 5 с), что в свою очередь изменяет активность ионных каналов, фосфолипаз или цГМФ-зависимой протеинкиназы.

Селективный блокатор растворимой гуанилатциклазы 1H-[1,2,4]-oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ) в концентрации 2,5 мкМ достоверно не изменял амплитуду ТКП. К 30 минуте апликации амплитуда ТКП составляла 111,4±26,5% (n=5, p>0,05). На фоне действия ODQ, SNAP уменьшал амплитуду ТКП до 62,1±10,3% (n=5, p<0,05), что меньше его эффекта в контроле. Таким образом, NO снижает вызванную секрецию медиатора в нервно-мышечном синапсе мышы и его эффекты частично опосредуются активацией гуанилатциклазы.

Работа поддержана грантом РФФИ 09-04-00748.

Механизмы регуляции сократительной активности и автоматии стенки тела асцидии *Styela rustica*.

Волкова Евгения Павловна, Тарасова Е.О., Зыбина А.М.

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, sciuriny@gmail.com)

Асцидии являются широко распространенными организмами, морфология и экология которых хорошо известна, однако остается много неизученного касательно их физиологии. Цель данной работы заключалась в исследовании природы автоматической активности, характерной для мышц стенки тела, а также в изучении нервной регуляции мышечных сокращений у асцидий.

Опыты были выполнены на Беломорской Биологической Станции им. Перцова (МГУ). Продольную полосу мышечной стенки асцидий *Styela rustica* помещали в проточную камеру с охлажденной морской водой, механическую активность регистрировали с помощью механо-электрического преобразователя.

При добавлении в морскую воду ацетилхолина (АЦХ) и карбахолина (негидролизуемого аналога АЦХ) в диапазоне концентраций 10^{-7} М- 10^{-5} М развивался выраженный сократительный ответ мышечной полоски. При действии карбахолина сократительный ответ был значительно больше по амплитуде и длительнее, чем при действии АЦХ. Атропин – блокатор М-холинорецепторов, в диапазоне концентраций 10^{-7} М- 10^{-5} М не снижал сократительного ответа препарата, вызванного АЦХ (10^{-5} М). d-тубокурарин – блокатор N-холинорецепторов, в диапазоне концентраций 10^{-7} М- 10^{-5} М прогрессивно снижал сократительный ответ препарата на АЦХ (10^{-5} М).

Ивабрадин – блокатор пейсмекерного тока млекопитающих, в диапазоне концентраций 10^{-6} М- 10^{-4} М не вызывал изменения частоты ритмической активности. Прокаин и хинидин – блокаторы натриевой проводимости, также не оказывали влияния на автоматию.

Таким образом, ацетилхолин (АЦХ) является медиатором нервно-мышечной передачи у асцидий. В мышцах стенки тела показано наличие ацетилхолинэстеразной активности. На основании экспериментов с холиноблокаторами можно предположить, что действие АЦХ опосредуют N-холинотипные рецепторы. Также показано, что автоматия мышц стенки тела асцидии, вероятно, не связана с периодической активацией катионного тока, активируемого гиперполяризацией либо потенциалчувствительных натриевых каналов. Для изучения природы автоматической активности мышечной стенки асцидии необходимы дальнейшие исследования.

Величина мембранного потенциала митохондрий как отражение функционального состояния сердца старых крыс

Добровольская Раиса Андреевна¹, Гошовская Ю. В.²

(¹Национальный университет “Киево-Могилянская Академия”, ²Институт физиологии им. А. А. Богомольца, Украина, Киев, ¹raysik@yandex.ru, ²pokutt@gmail.com)

Процесс уменьшения протонного градиента – протонный поток, сопровождается снижением синтеза АТФ и опосредован митохондриальными порами (МП) и разобщающими белками (uncoupling proteins, UCP). Ранее было показано, что при старении организма увеличивается экспрессия генов белковых компонентов митохондриальных пор, а также чувствительность пор к действию индукторов, что указывает на интенсификацию протонного потока через митохондриальные поры. Цель работы состояла в изучении соотношения потребления кислорода миокардом уровню мембранного потенциала митохондрий сердца взрослых и старых крыс, а также выяснении возможного участия сердечных изоформ разобщающих белков в диссипации протонного градиента.

Сердца взрослых (6 мес) и старых (24 мес) крыс изолировали по методу Лангендорфа и изучали их сократительную активность и кислородный обмен. В тех же экспериментах регистрировали дыхание митохондрий сердца при наличии субстрата дыхания сукцината Na и блокатора АТФ-синтазы – олигомицина; одновременно с помощью потенциометрии с использованием липолитического катиона триметилфенилфосфония (TRMP⁺) измеряли и рассчитывали по уравнению Нернста мембранный потенциал митохондрий ($\Delta\psi$).

Экспрессию генов UCP2 и UCP3 в тканях сердца изучали с помощью ПЦР-анализа.

Показано нарушение диастолической функции сердца старых крыс, сопровождающееся не только достоверным увеличением потребления кислорода и кислородной стоимости его работы ($P < 0,05$), но и снижением уровня мембранного потенциала митохондрий сердца старых крыс до $-146,5 \pm 3,2$ мВ по сравнению с взрослыми – $-156 \pm 3,5$ мВ ($P < 0,04$). Подобные изменения свидетельствовали об утечке протонов, что подтверждалось и достоверным увеличением уровня экспрессии разобщающего белка UCP2 ($P < 0,03$) в сердцах старых животных. Таким образом, диастолическая дисфункция и низкая эффективность использования кислорода миокардом старых животных связана со снижением величины мембранного потенциала митохондрий. Последнее является результатом повышения протонного потока как следствия не только образования митохондриальных пор, но и активизации разобщающих белков.

Репродуктивная эффективность антигенстимулированных самцов мышей **Масленникова Светлана Олеговна**

*(Новосибирского государственного университета, факультет Естественных наук,
Россия, Новосибирск, maslennikova_svetla@ngs.ru)*

Доминирующий взгляд на роль паразитарного окружения в реализации репродуктивного потенциала хозяев базируется на многочисленных примерах нарушения различных показателей воспроизводства у инфицированных животных. Современная парадигма эколого-эволюционного анализа репродуктивной значимости паразитизма (в широком смысле) ориентирована не столько на сами болезни, которые являются достаточно редким явлением, сколько на изучение популяционных эффектов, обусловленных активацией защитных механизмов, что в условиях разнообразной паразитарной среды наблюдается гораздо чаще.

В данной работе специфический иммунный ответ вызывали у самцов аутбредной линии мышей ICR ($n=19$) путем внутрибрюшинного введения гемоцианина (KLH). Контрольным особям ($n=19$) вводили физиологический раствор. На начальном этапе антителообразования (3-и сут после введения KLH или физиологического раствора) к антигенстимулированным и контрольным самцам подсаживали по 2 интактных самки и содержали совместно до покрытия (наличие вагинальной пробки), но не более 6 суток. У самок, содержавшихся с антигенстимулированными самцами, отмечено, достоверно большее число овулировавших яйцеклеток (177), общее число эмбрионов (128) и число живых эмбрионов (112) по сравнению с контролем (97, 83, 74, соответственно, $p < 0,05$, критерий χ^2 для нуль-гипотезы о равном репродуктивном выходе). Самки, покрытые антигенстимулированными самцами, вынашивали более крупных потомков по сравнению с контролем ($620,3 \pm 6,2$ мг и $583,0 \pm 7,4$ мг, $t=3,81$, $p < 0,001$). Показатели плодовитости самок зависели от преобладания у антигенстимулированных самцов клеточного (Th1) или гуморального (Th2) иммунных ответов. У самок, покрытых самцами с преобладанием клеточного иммунного ответа, были более высокие доимплантационные эмбриональные потери ($42,7 \pm 4,9$), общие эмбриональные потери ($46,6 \pm 6,5$), но они вынашивали более крупных потомков ($641,5 \pm 9,4$ мг) по сравнению с таковыми у самок, чьими партнерами были особи, характеризующиеся преобладанием гуморального иммунного ответа ($17,6 \pm 4,4$, $\chi^2=12,48$; $p=0,004$, $23,0 \pm 4,9$, $\chi^2=10,35$; $p=0,009$, $607,2 \pm 8,3$ мг, $t=2,66$, $p=0,009$, соответственно).

В данной работе, установлено, что общий эффект активации иммунной системы у самок направлен на увеличение фертильности. Основное позитивное влияние на темпы роста потомков антигенстимулированных самцов оказывало превалирование Th1 иммунного ответа.

Таким образом, экспериментально обоснованная возможность увеличения воспроизводства при активации иммунной системы позволяет, объяснить вклад защитных реакций организма в повышение фертильности млекопитающих, населяющих территории с высоким видовым обилием паразитов.

Тезисы доклада основаны на материалах исследований, проведенных при поддержке РФФИ.

Автор выражает признательность д.б.н. Герлинской Л.А. и профессору, д.б.н. Мошкину М.П. за помощь в подготовке тезисов.

**NO зависимый аритмогенный эффект TNF- α у предсердий крыс
Митрохин Вадим Михайлович, Тянь Б.**

*(Российский государственный медицинский Университет, Россия, Москва,
vmitrohin@gmail.com)*

Нами показано, что TNF- α вызывает электрические аномальности кардиомиоцитов, а растяжение ткани их устраняет. Предположительно этот эффект реализуется через механоуправляемые каналы (Mechanically Gated Channels: MGCs) кардиомиоцитов, работа которых модулируется NO, поскольку донор NO SNAP открывает MGCs у нерастянутой клетки, а у растянутой клетки их закрывает. Если TNF- α реализует свой эффект через повышение концентрации NO посредством активации NO-синтазы, то применение донора NO, например, SNAP должно приводить к изменению в APD90 с последующим возникновением аритмии. Для доказательства этого в отсутствии каких либо изменений в перфузионной нагрузке, осуществляли перфузию ткани стандартным солевым раствором, содержащим SNAP в концентрации 3×10^{-4} М. Уже через 10 мин наблюдали появление горбообразной деполяризации, которая позднее преобразовывалась в устойчивые паразисмы, чередующиеся с аномальными или нормальными потенциалами действия. То есть SNAP вызывал аномальности по типу горбообразной деполяризации, аналогичные тем, которые вызывал TNF- α . Для ответа на вопрос, являются ли аномальности и аритмии, вызванные SNAP, аналогами деполяризации опосредованной растяжением (SID), проводили 2 серии экспериментов с Gd^{3+} в концентрации 40 мкмоль/л. В одной серии Gd^{3+} добавляли в перфузионный раствор после появления вызванных SNAP горбообразных деполяризаций или развившихся на этом фоне аритмий. Было показано, что горбообразные деполяризации в аномальных паттернах полностью блокировались 40 мкмоль/л Gd^{3+} в течение 10 мин после его введения в раствор. Возникающие под действием SNAP аритмии также блокировались 40 мкмоль/л Gd^{3+} . В другой серии Gd^{3+} добавляли в перфузионный раствор вместе со SNAP. В этом случае мы не регистрировали никаких аномальных потенциалов. Поскольку дискретное растяжение ткани на фоне перфузии TNF- α приводило к полному устранению сначала аритмии, а затем электрических аномальностей, и с учетом того, что эффект TNF- α может реализовываться через повышение концентрации NO, мы поставили серию экспериментов, в которых вызывали SNAP индуцированное появление SID и аритмий, а затем растягивали клетки для дополнительной активации NO-синтазы. После появления вызванных SNAP аномальностей или аритмий ткань растягивали, и это растяжение полностью устраняло не только аритмии, но и SI-подобную деполяризацию, вызванную SNAP.

В заключении было показано, что введение SNAP на фоне вызванных TNF- α аномальностей полностью устраняет эти аномальности. Для выяснения функциональной роли NO-синтазы в реализации эффекта TNF- α применяли их неселективный ингибитор L-NAME, которым предварительно инкубировали ткань в течение 30 мин, после чего добавляли TNF- α и инкубировали еще 30 мин на фоне L-NAME. Предварительная перфузия ткани раствором L-NAME не приводит к появлению каких либо аномальностей в развитии потенциалов действия даже через 30 мин регистрации. Однако, несомненно, более важный факт заключается в том, что после подобной инкубации TNF- α , введенный на фоне L-NAME не вызывает появления или развитие горбообразной деполяризации. Принципиально важно, что растяжение не вызывало появления или развитие горбообразной деполяризации.

Таким образом, аритмогенный эффект TNF- α связан с работой MGCs и является NO зависимым. TNF- α активирует NO синтазы, в результате чего повышается концентрация NO, что приводит к открытию MGCs, потоку Na^+ в клетку и деполяризации мембраны, что приводит к аритмиям.

Дистанционная оценка физиологического состояния бодрствующих крыс в условиях формирования эмоционального стресса

Мкртчян Масис Арташесович

(Ереванский государственный университет, факультет Химии, Ереван, Армения, Masis1989@yandex.ru)

Исследования по поиску альтернативных методов оценки физиологического состояния биологических систем, проведенные в Институте физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА, привели к разработке нового прибора - «Биоскопа» (Dtgayer J.P. et. al, 2007) способного бесконтактно реагировать на присутствие биологических систем (растения, лабораторные животные, люди). Прибор прост в конструкции, а принцип его работы основан на оценке интенсивности света, рассеянного от датчика – стеклянной пластины, покрытой тонким непрозрачным материалом.

Как показали многочисленные эксперименты, «Биоскоп» не чувствителен к обычным физическим воздействиям. Однако если в непосредственной близости (1-10 см) от него расположить биологический объект, в его показаниях формируются характерные осцилляции (Саркисян Р.Ш., Тер-Григорян С.А., 2002). Выраженность сигналов аппаратуры различна для разных биологических систем, вместе с тем ее сигналы меняются и при изменении физиологической активности организма. При использовании биоскопа нет необходимости в экранировке от внешних электрических или магнитных полей, а состояние животного можно бесконтактно оценивать в любой области ее тела.

В данной работе исследована возможность использования «Биоскопа» для дистанционной оценки особенностей физиологического состояния бодрствующих крыс в норме, во время и после эмоционально-звукового стресса (ЭЗС).

Для формирования ЭЗС озвучивалась одна и та же магнитофонная запись тревожных пиков, которая была предварительно сделана при болевом сдавливании задней конечности крысы.

Анализ зарегистрированных сигналов осуществлялся с использованием пакета программ «Origin-8». Оценка плотности спектральной мощности (ПСМ) сигналов биоскопа проводилась методом быстрого преобразования Фурье.

Проведенное исследование выявило эффективность использования аппаратного комплекса «Биоскоп» для контроля физиологического состояния крыс в условиях формирования эмоционально-стрессорных воздействий на их организм.

Роль Са-каналов L-типа в опосредованной β_2 -адренорецепторами регуляции сократимости изолированных предсердий мыши.

Одношिवкина Юлия Геннадьевна, Петров А.М.

(Казанский государственный медицинский университет, Россия, Казань, Odnoshivkina-Y@mail.ru)

Сокращение кардиомиоцитов напрямую зависит от внутриклеточной концентрации ионов Са. Поступление Са в кардиомиоциты происходит в основном через Са-каналы L-типа, расположенные на плазматической мембране, и Са-освобождающие каналы саркоплазматического ретикулума (рианодиновые рецепторы 2-го типа). Предполагается, что именно Са-каналы L-типа являются главными звеньями в реализации эффектов на сократимость желудочков β_2 -адренорецепторов.

С помощью тензометрического и флуоресцентных методов исследовали влияние блокады Са-каналов L-типа на работу β_2 -адренорецепторов, которые активировали с помощью селективного агониста (фенотерола, 5мкМ).

Апликация фенотерола приводила к увеличению амплитуды сокращений предсердий к 25 мин до $124 \pm 4\%$ ($n=4$, $p \leq 0,05$), а к 30 мин – до $137 \pm 3\%$ ($p \leq 0,05$) от исходной. Блокатор Са-каналов L-типа нифедипин (10 мкМ) снижал амплитуду сокращений предсердий на $55 \pm 5\%$ к 30 мин действия ($n=4$, $p \leq 0,05$). На фоне нифедипина амплитуда сокращений увеличивалась к 25 мин до $130 \pm 4\%$ ($n=4$, $p \leq 0,05$), однако уже через 10-15 мин сила сокращений возвращалась к исходной.

Под влиянием фенотерола величина Са-сигналов к 10 мин составляла $150 \pm 4\%$ ($n=4$, $p \leq 0,05$), а к 20 мин $135 \pm 4\%$ ($n=4$, $p \leq 0,05$). После удаления фенотерола из раствора амплитуда Са-сигналов через 5 мин составила $132 \pm 4\%$ ($n=4$, $p \leq 0,05$), далее амплитуда в течение 50-60 мин возвращалась к исходной. Под влиянием нифедипина амплитуда Са-сигналов в течение 2-3 мин снижалась на 50-60% от контрольной величины. Добавление фенотерола изменяло амплитуду Са-сигналов: к 10 мин величина Са-сигналов составляла $135 \pm 4\%$ ($n=4$, $p \leq 0,05$), а к 20 мин $127 \pm 4\%$ ($n=4$, $p \leq 0,05$). После удаления фенотерола из раствора амплитуда Са-сигналов через 5 мин составила $114 \pm 4\%$ ($n=4$, $p \leq 0,05$), в последующие 20-30 мин амплитуда возвращалась к исходному значению.

Таким образом, показано уменьшение положительного инотропного эффекта фенотерола на фоне ингибирования Са-каналов L-типа нифедипином (10 мкМ). В этих условиях увеличение силы сокращения и амплитуды Са-сигналов при стимуляции β_2 -адренорецепторов носило кратковременный характер. Можно заключить, что эффект активации β_2 -адренорецепторов предсердий в значительной степени (но не полностью) зависит от функционирования Са-каналов L-типа.

Работа поддержана грантами НШ-5250.2010.4, МК-3840.2010.4, РФФИ №11-04-00568-а, № 11-04-00422-а.

Сравнительный анализ двух моделей эрекции у крыс Попова Анфиса Сергеевна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Россия, Москва, popova.anfisa@gmail.com)

Эрекция полового члена обусловлена расширением сосудов пениса, увеличением кровотока и кровенаполнением синусоид пещеристых тел. Расслабление гладкой мускулатуры сосудов и ткани пещеристых тел обусловлено действием оксида азота. Ключевым источником этого медиатора в пенисе являются парасимпатические постганглионарные нервные волокна. В настоящее время для исследования механизмов эрекции и оценки эффективности фармакологических препаратов на крысах используют две экспериментальные модели. В первой из них эрекцию вызывают раздражением NO-ергических нервов пениса, во второй – непосредственно введением доноров оксида азота в пещеристые тела полового члена. В данной работе мы сопоставили эти два подхода с целью оценки вклада факторов, обусловленных свойствами нерва и гладкой мускулатуры пениса в регистрируемые параметры эректильного ответа.

В остром эксперименте у наркотизированных животных регистрировали давление крови в пещеристых телах пениса (ДПТ) и сонной артерии (АД). Эрекцию вызывали раздражением кавернозного нерва или введением нитропрусида натрия в пещеристые тела пениса. Рассчитывали амплитуду, площадь под кривой (ППК) и скорость развития эректильного ответа. Проводили логистическую регрессию полученных кривых стимул-ответ или доза-ответ, после чего рассчитывали корреляции между показателями чувствительности к раздражению нервов и экзогенному NO.

Полученные кривые зависимости параметров эректильного ответа от силы стимула или дозы нитропрусида хорошо описываются логистическим уравнением. Было установлено наличие выраженных корреляций между параметрами кривых, описывающих реакцию на раздражение нерва и параметрами чувствительности к оксиду азота ($r=0,6-0,7$, $p < 0,05$).

Таким образом, параметры эрекции, вызываемой раздражением кавернозных нервов, характеризуют, преимущественно, чувствительность гладкой мускулатуры ткани и сосудов пениса к оксиду азота. Данное предположение будет проверено экспериментально с использованием блокаторов нейрональной NO-синтазы и фосфодиэстеразы гладкой мускулатуры пениса.

Влияние Pro-Gly-Pro и acetyl-Pro-Gly-Pro на экспрессию цитокинов при этаноловом повреждении слизистой оболочки желудка крыс

Сангаджиева Анна Джангровна

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, sanganna@mail.ru)

Цитокинам (ЦК) принадлежит важная роль в развитии и течении заболеваний разных органов и систем, в том числе органов пищеварения. ЦК — низкомолекулярные белки, обеспечивающие передачу сигнала между разными видами клеток в организме. Целью данной работы является изучение влияния глипролинов Pro-Gly-Pro (PGP) и acetyl-Pro-Gly-Pro (acPGP) на экспрессию цитокинов при этаноловой модели язвообразования.

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 200-250 г. Пептиды PGP и acPGP синтезированы в Институте Молекулярной генетике РАН. Животным опытной группы за час до проведения эксперимента интраназально вводили PGP или acPGP в дозе 3,7 мкм/кг в объеме 10 мкл/200 г, контрольной группе - физиологический раствор в том же объеме. Этаноловые повреждения СОЖ вызывали внутрижелудочным введением 96⁰-го этанола (1 мл/200 г веса). Площадь язвенных повреждений СОЖ (мм²) рассчитывали с помощью бинокулярной лупы с окуляр-микрометром. Для определения активности мРНК 11 цитокинов в мононуклеарах периферической крови использовали методы обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции.

Внутрижелудочное введение этанола сопровождалось повышением транскрипции интерферона (ИФН)- γ , интерлейкина (ИЛ)-6, ИЛ-8, ИЛ-17, ИЛ-18. На фоне предварительного введения PGP выявлена активация транскрипции ИЛ-4, одновременно отмечено угнетение экспрессии ИФН- γ (статистически достоверно), ИЛ-8, ИЛ-12, ФНО- α . AcPGP вызывал угнетение транскрипции ИФН- γ , ИЛ-6 (статистически достоверно), ИФН- α , ИЛ-8, ИЛ-17. У контрольных животных действие этанола вызывало повреждения СОЖ, площадь которых в среднем равна 144,46 мм². Предварительное введение трипептида PGP уменьшало площадь этаноловых повреждений СОЖ до 69,46 мм² ($p < 0,05$ по критерию Манна-Уитни); противовоспалительный эффект (ПЭ) PGP равен 52%. AcPGP практически не изменял площадь повреждения СОЖ (117,49 мм²).

При интраназальном введении PGP защищает СОЖ от этаноловых повреждений; протекторный противовоспалительный эффект PGP составил 52%. AcPGP не проявил ПЭ. На фоне PGP наблюдали повышение экспрессии гена противовоспалительного ИЛ-4. AcPGP не влиял на экспрессию гена ИЛ-4. На основании полученных данных, можно предположить, что ПЭ связан с экспрессией гена ИЛ-4. Соответственно можно говорить об активации Th2-лимфоцитов и макрофагов/моноцитов.

Роль оксида азота в эндотелий-зависимой регуляции тонуса сосудов у крыс в раннем постнатальном периоде

Софронова Светлана Ивановна, Гайнуллина Д.К.

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия, sofnronova.mailbox@gmail.com)

Созревание организма млекопитающих сопряжено с изменениями в сердечно-сосудистой системе. Эти изменения выражаются как в повышении уровня артериального давления, так и в перестройке сосудистой стенки и механизмов регуляции сокращения сосудов. Мы предположили, что во время развития организма изменяется и секреторная функция эндотелия, причем антиконстрикторное влияние эндотелия служит одним из механизмов поддержания артериального давления у новорожденных животных на низком уровне.

Эндотелий сосудов может продуцировать как вазоконстрикторные, так и вазодилаторные вещества. Одним из наиболее хорошо изученных вазодилаторов является оксид азота (NO), основным эффектором NO в гладкой мышце сосудов является растворимая гуанилатциклаза. У взрослых крыс эндотелий-зависимое расслабление подкожной артерии обусловлено в основном действием NO.

Данная работа проводилась на кольцевых препаратах подкожной артерии 1-2-недельных (новорожденные) и взрослых крыс. Изучали сокращение на метоксамин (агонист α_1 -адренорецепторов) в изометрических условиях.

У взрослых животных метоксамин вызывал одинаковое сокращение артерий интактным (pD_2 $5,82 \pm 0,08$) и удаленным эндотелием (pD_2 $5,94 \pm 0,08$). Однако у новорожденных животных удаление эндотелия приводило к значительному увеличению чувствительности артерий к метоксамину (pD_2 $4,87 \pm 0,33$ и $5,64 \pm 0,09$ для сосудов с интактным и удаленным эндотелием соответственно). Таким образом, у новорожденных животных эндотелий значительно ослабляет сократительный ответ сосудов на метоксамин, но не влияет на сокращение у взрослых.

Добавление ингибитора NO-синтазы L-NNA ($100 \mu M$) к сосудам новорожденных животных с интактным эндотелием приводило к существенному росту сократительного ответа на метоксамин по сравнению с действием неактивного аналога ингибитора D-NNA ($100 \mu M$) (pD_2 $6,10 \pm 0,14$ и $5,50 \pm 0,07$ для L-NNA и D-NNA соответственно). Ингибитор растворимой гуанилатциклазы - ODC ($1 \mu M$) также увеличивал сокращение на метоксамин в сосудах новорожденных животных с интактным эндотелием.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у новорожденных животных эндотелий значительно ослабляет сократительный ответ сосудов за счет выделения NO, тогда как у взрослых животных такого влияния он не оказывает. Таким образом, эндотелий новорожденных животных обладает повышенной дилататорной активностью, что должно способствовать поддержанию артериального давления у таких животных на низком уровне.

Работа поддержана грантом РФФИ № 10-04-01723-а.

Моделирование ионных механизмов действия нового антиаритмического препарата III класса (ниферидила) на кардиомиоцит предсердия человека **Столбова Вероника Игоревна**

(Московский Государственный Университет имени М. В. Ломоносова, Физический факультет, кафедра биофизики, Российский кардиологический научно-производственный комплекс, Россия, Москва, stolbova.veronika@gmail.com)

Для лечения аритмий сердца используется ряд антиаритмических препаратов, которые формально разделены на несколько классов. Антиаритмические препараты III класса (ААП III) вызывают снижение длительности фазы плато потенциала действия (ПД), замедление реполяризации, увеличение длительности ПД и рефрактерности в желудочковом и предсердном миокарде. Ранее показано, что ААП III влияют на калиевые токи задержанного выпрямления I_{Kr} , кальциевые токи I_{Ca} , калиевый ток аномального выпрямления I_{K1} . Использование ААП III наиболее перспективно при терапии предсердных аритмий, однако их свойства и электрофизиологические механизмы действия до конца не изучены. Математическое моделирование позволяет объяснить особенности биоэлектрической активности, а также оценить антиаритмический потенциал фармакологических препаратов. Цель данной работы заключалась в модельном анализе влияния ААП III (ниферидила) на ПД в различных условиях.

В работе использована математическая модель ПД кардиомиоцита предсердия человека. Зависимость длительности ПД от периода стимуляции изучалась с помощью метода бифуркационных диаграмм. Путем моделирования получены кривые, соответствующие ПД, наблюдавшимся в экспериментах на предсердном миокарде в контрольных условиях и после действия ниферидила. Установлено, что модель влияния ниферидила может быть получена при воздействии на выходящие калиевые токи I_{Kr} , I_{Ks} , ток аномального (входящего) выпрямления I_{K1} , а также входящий кальциевый ток I_{Ca} . Наибольший эффект увеличения длительности ПД предсердий связан с подавлением на 20% I_{K1} и увеличением на 15% I_{Ca} , в то время как подавление I_{Kr} и I_{Ks} существенно не влияют на форму и длительность ПД. Показано, что подавление как калиевых реполяризующих токов, так и кальциевого тока приводит сдвигу границы потери устойчивости нормального ритма в сторону увеличения периода стимуляции.

Таким образом, с помощью моделирования подтверждается гипотеза многофакторного воздействия ААП на ионные токи в сердце. Также показано, что воздействие ААП может в определенных условиях приводить к увеличению уязвимости миокарда.

Особенности экспрессии CART- пептида в переднем кортикальном ядре миндалевидного комплекса мозга крыс

Тухватуллина Наиля Галиевна

(Башкирский государственный университет, Биологический факультет, Россия, Уфа, rent41@yandex.ru)

Кортикальное ядро является одной из основных морфообразующих структур миндалевидного комплекса, характеризующееся значительной площадью и rostrocaудальной протяженностью.

Считается, что кортикальное ядро является элементом нейроэндокринной системы миндалевидного комплекса (Акмаев, Калимуллина, 1993). Функционально кортикальное ядро тесно связано с обработкой обонятельной информации, формированием обонятельной памяти и выработкой адекватного поведенческого ответа на обонятельные стимулы (Swanson, Petrovich, 1998).

В физиологии кортикальное ядро часто рассматривается как единое образование, при этом не уделяется должного внимания на сложность его структурной организации. Подробное изучение специфики типов нейронов, содержащихся в кортикальном ядре на разных уровнях миндалевидного комплекса, является необходимым для лучшего понимания анатомии и физиологии этой структуры мозга и амигдалы в целом.

Развитие новых технологий позволило открыть пептиды, роль которых мало изучена. В частности CART-пептид (cocain-amfetomine-regulated transcript) обильно экспрессируется в гипоталамусе. CART- продуцирующие нейроны распространены в различных областях мозга. Существуют тесные структурные взаимодействия центральных и гипоталамических дофаминэргических систем с CART-системами. Исследованиями последних лет доказано наличие половой диморфной модуляции CART-пептида в гипоталамусе.

Целью нашего исследования являлось: выявление структурно-функциональных особенностей нейронов переднего кортикального ядра амигдалы.

Иммуноцитохимическое выявление CART-пептида проводили на криостатных срезах головного мозга одновременно для двух групп животных. Оптическую плотность иммунореактивных нейронов на CART-пептид определяли с помощью программы «Фото-М».

Проведенное исследование показало, что во всех изученных зонах переднего кортикального ядра: в глубокой клеточной и поверхностно-клеточной выявлен CART-пептид. Измерение оптической плотности CART –пептида в переднем кортикальном ядре достоверно различается в изученных зонах. Иммунореактивность переднего кортикального ядра, содержащий CART- позитивные нейроны, позволяет считать, что кроме синтеза этого пептида он может поступать в миндалевидный комплекс по аксонам нейронов обонятельных луковиц, в которых ранее обнаружены экспрессирующие CART- пептид нейроны.

Исследование механизма угнетающего действия глипролинов на желудочную секрецию кислоты

Фалалева Татьяна Михайловна

(Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, Биологический факультет, Киев, Украина, tfalalyeueva@mail.ru)

Ранее было показано, что глипролины оказывают угнетающее действие на желудочную секрецию кислоты (ЖСК) и усиливают кровоток в слизистой оболочке желудка (СОЖ). Принимая во внимание роль оксида азота (NO) в регуляции кровотока в СОЖ и данные литературы о угнетающем влиянии в определенных дозах доноров NO и субстрата его синтеза L-аргинина на ЖСК, целью работы было изучить влияние глипролинов на уровень метаболита оксида азота NO₂⁻, как показателя генерации NO, до и после введения глипролинов.

Исследования проведены в условиях острого эксперимента на 28 белых нелинейных крысах массой 180-220 г. Глипролины PGP, PG, GP (синтезированные в лаборатории регуляторов пептидов Института молекулярной генетики РАН), растворенные в физиологическом растворе, вводили за 30 минут до забора крови в дозе 3,7 мкмоль/кг (внутрибрюшинно). Содержание анионов нитрита (NO_2^-) в плазме крови определяли с помощью реактива Грисса.

Установлено, что базальный уровень NO_2^- в плазме крови крыс $2,56 \pm 0,05$ ммоль/л. Введение PGP приводило к увеличению концентрации NO_2^- в плазме крови на 17% ($p < 0,001$). Метаболиты PGP - GP и PG более интенсивно увеличивали уровень NO_2^- на 25% ($p < 0,001$) и 28% ($p < 0,001$) соответственно. Следовательно, можно заключить, что действительно одним из механизмов влияния глипролинов на ЖКС является стимуляция выделения NO, который приводит к торможению ЖКС. Также можно сделать вывод, что сосудорасширяющий эффект глипролинов, который является одним из механизмов цитопротекции в СОЖ, реализуется за счет генерации NO.

Таким образом, учитывая эндогенное происхождение глипролинов, можно за счет этих пептидов расширить спектр известных факторов защиты (защитный слизистый барьер, адекватная микроциркуляция, активная регенерация), противостоящих в естественных условиях факторам агрессии (кислотно-пептический, стресс и др.). Уменьшение образования пролин-содержащих пептидов будет приводить к увеличению секреции кислоты, и, как следствие, риску язвообразования.

Выражаю искреннюю благодарность проф., д.б.н. Самониной Галине Ефимовне и проф., д.б.н. Береговой Татьяне Владимировне за помощь, советы и поддержку, оказанные в ходе выполнения данной работы.

Исследование роли внутриклеточной концентрации кальция в эффектах сероводорода на сократимость миокарда лягушки

Хаертинов Наиль Назимович, Шафигуллин М.У., Ахметшина Д.Р.

(Казанский государственный университет им. В.И. Ульянова-Ленина, Россия, Казань, Haertinov@yandex.ru)

Сероводород (H_2S) – эндогенно синтезируемый газообразный посредник, который недавно был предположен в качестве регулятора сердечно-сосудистой системы у разных классов позвоночных животных. Среди мишеней действия H_2S – АТФ-зависимые К-каналы, аденилатциклаза. В кардиомиоцитах H_2S , как и его донор гидросульфид натрия (NaHS), вызывает снижение сократимости за счет ингибирующего влияния на потенциалзависимые Ca^{2+} -каналы L-типа. Целью работы было исследование роли

Ca^{2+} -каналов плазматической мембраны и саркоплазматического ретикулума в эффектах H_2S на сократимость миокарда лягушки *Rana Ridibunda*.

Регистрация сократимости полосок миокарда производилась на установке Powerlab 14sp с помощью программы Chart, полученные результаты обрабатывали при помощи стандартных методов. В качестве донора H_2S использовали NaHS в концентрации 100мкМ.

Апликация NaHS приводила к угнетению сократимости полоски миокарда лягушки до $95,2 \pm 0,9\%$ к 3 мин и до $78,7 \pm 5,6\%$ по отношению к контролю ($n=5, p < 0,05$) к 15 мин апликации, эффект был обратимым. При апликации блокатора Ca^{2+} -канала L-типа нифедипина в концентрации 10мкМ происходило угнетение сократимости к 8 мин до $60,1 \pm 10,7\%$ по отношению к контрольным значениям ($n=4, p < 0,05$), при давлении на его фоне NaHS происходило дальнейшее снижение амплитуды сокращения до $70,4 \pm 6,3\%$ к 3 мин апликации и до $42,9 \pm 13,6\%$ к 15 мин ($n=4, p < 0,05$) по отношению к контрольным значениям при апликации нифедипина, но не отличались по эффекту от действия NaHS в контроле. Таким образом, на фоне блокирования Ca^{2+} -каналов L-типа эффект донора сероводорода сохраняется. Кофеин в концентрации 3 мМ приводил к понижению сократимости до $90,3 \pm 2,5\%$ по отношению к контролю ($n=4, p < 0,05$) к 10 мин апликации. При добавлении NaHS на фоне кофеина происходило угнетение сократимости до $78,7 \pm 5,6\%$ ($n=4, p < 0,05$) к 15 мин, что не отличалось от действия NaHS в контроле.

Таким образом, изменение концентрации Ca^{2+} , путем блокирования Ca^{2+} -каналов L-типа или стимулирования освобождения Ca^{2+} из внутриклеточных депо не препятствуют проявлению отрицательного инотропного эффекта H_2S в миокарде желудочка лягушки. Поэтому мы предполагаем существование в миокарде лягушки Ca^{2+} -независимого механизма, опосредующего отрицательную инотропную реакцию в ответ на экзогенный сероводород.

Работа поддержана грантом РФФИ 09-04-00748.

Влияние окисления холестерина и его экстракции из пресинаптической мембраны двигательного нерва на процесс пуриnergического контроля секреции медиатора в нервно-мышечном синапсе лягушки

Шаймуратов Рустем Ильдарович, Гиниятуллин А.Р.

(Казанский государственный медицинский университет, Педиатрический факультет, Россия, Казань, sulla80@mail.ru)

На протяжении последних десятилетий приоритетным направлением в синаптологии являлось изучение роли различных мембранных белков в процессе синаптической межклеточной коммуникации. И только в последние годы исследователи начинают обращать внимание на значение липидов и их микроокружения в организации и функционировании синаптического контакта, так как синаптическая передача напрямую связана с существенными биохимическими и структурными изменениями в липид - богатых участках мембран – липидных плотиков. Немало важным является то, что часть рецепторных структур чувствительных к классическим медиаторам на пре- и постсинаптической мембране может располагаться именно в таких участках мембраны, что способствует ко-локализации рецептора со специфическими сигнальными молекулами и может оказывать определяющее значение на его функционирование. Ранее при работе на периферическом синапсе холоднокровных, нашей лабораторией была обнаружена пуриnergическая (внеклеточная АФТ) система контроля процесса секреции нейромедиатора и установлена пресинаптическая природа действия АТФ опосредованная P_2Y типом рецепторов. В данной работе мы проверили предположение о том, что, по крайней мере, часть P_2Y -рецепторов нервного окончания (НО) локализуется в липидных плотиках, а работа известного каскада внутриклеточных посредников при активации данных рецепторов может определяться структурой плотиков. При регистрации токов концевой пластинки (ТКП) при помощи метода двухэлектродной фиксации потенциала нами показано, что специфическое окисление мембранного холестерина НО до *4-холестен-3-она*, ферментом – холестериноксидазой (1 ед. активности), никак не влияет на эффект внеклеточной АТФ, к пятнадцатой минуте аппликации пурина, проявляющийся в обратимом снижении амплитуды ТКП до $67 \pm 1\%$ от контрольных значений ($n=6$; $P<0.01$). Тогда как экстракция холестерина преимущественно из липидных плотиков пресинаптической мембраны НО, (предварительная инкубация нервно-мышечного препарата в физиологическом растворе, содержащем метил- β -циклодекстрин - 1 мМоль/л), снижает выраженность негативного эффекта АТФ на процесс секреции медиатора из НО и отстраняет по времени его реализацию. Полученные нами данные, указывают на важную роль липидных плотиков и их состава в определении функциональной активности P_2Y рецепторов и связанных с ними G-белок управляемых внутриклеточных сигнальных каскадов НО.

Работа поддержана грантами РФФИ № 11-04-00663 и НШ № 5250.2010.4.

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

Особенности электрической активности головного мозга при различных видах химической и нехимической аддикции

Абачарова Залму Сулеймановна

(ГОУ ВПО «Дагестанский государственный университет», Биологический факультет, кафедра анатомии, физиологии, гистологии, Россия, Махачкала, tigr13.08@mail.ru)

Проблема аддиктивных расстройств в настоящее время получает все большую актуальность в связи с ростом числа людей, особенно среди молодежи, страдающих

различными видами химической и нехимической зависимости. Разные виды аддикции, имеющие хронический характер, могут привести к изменению важнейших систем организма, в том числе, и нервной.

В связи с этим, целью наших исследований явилось изучение электрической активности головного мозга людей, страдающих химической (алкоголизм, наркомания, токсикомания, полинаркомания) и нехимической (компьютерной) аддикциями.

Регистрация и анализ ЭЭГ производились на электроэнцефалографе «МИЦАР-2010» с 16-канальным отведением. ЭЭГ регистрировали в виде непрерывной записи величин разности потенциалов между двумя точками головного мозга. При анализе рассматривали процент выраженности основных ритмов ЭЭГ, являющихся показателями уровня активности головного мозга.

В ходе наших исследований было установлено, что в группе с аддиктивными расстройствами отмечена общая тенденция к снижению процента выраженности альфа-волн и повышению индекса бета-волновой активности. Так, наибольшее снижение процента выраженности альфа-ритма (до 25%) и повышение индекса бета – волн (до 75%) отмечено у больных опийной наркоманией. В случае с компьютерной зависимостью индекс выраженности бета-волн повысился до 65%.

Усиление колебаний этих форм волн является свидетельством проявления ирритативных нарушений в коре головного мозга и изменений деятельности гипоталамо-диэнцефальных образований

Характерной особенностью ЭЭГ покоя при химических аддиктивных расстройствах является также появление медленноволновой активности, наличие которой может свидетельствовать о развитии патологического процесса с вовлечением глубоких структур мозга.

Электрическая активность головного мозга при аддиктивных расстройствах имеет свои особенности проявления в зависимости от природы и интенсивности действующего фактора.

Влияние пренатальной гипергомоцистеинемии на биохимические показатели и способность к экстраполяции потомства крыс.

Аверина Ольга Александровна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет Россия, Москва, averina.msu.biophys@gmail.com)

Высокий уровень гомоцистеина (ГС) в крови часто сопровождается неблагоприятным течением беременности и обуславливает её осложнения. Нейротоксический эффект ГС проявляется в стойкой активации глутаматных рецепторов NMDA-класса и нейротоксичности. Действие ГС приводит к активации апоптоза, а при повышении концентрации – и к некрозу нейрональных клеток, что особенно опасно в период раннего развития.

Целью данной работы являлось исследование развития потомства крыс при окислительном стрессе, вызванного гипергомоцистеинемией при беременности.

Исследования проведены на крысах Wistar обоего пола (n=74шт) SPF категории, по стандартам GLP. В нашей работе использовали модель пренатальной гипергомоцистеинемии, создаваемой у крыс за счет внесения в питьевую воду метионина суточной дозой 1г/кг в течение периода беременности и лактации (опытная группа). Интактные животные получали дистиллированную воду.

Полученное от всех трех групп потомство оценивалось по динамике увеличения длины тела в первые 20 дней жизни, концентрации малонового диальдегида (МДА) в мозге на 12 день жизни. На 45 сутки проводили тесты: закрытый крестообразный лабиринт (ЗКЛ), экстраполяционное извлечение (ЭИ). Данный тест предназначен для оценки индивидуальных различий когнитивного стиля решения задачи, становления когнитивных функций в онтогенезе, влияния фармакологически-активных веществ на нарушение когнитивных функций крыс в условиях острого стресса. Биохимические исследования крови проводили спектрофотометрически.

Было показано, что потребление метионина самками в период беременности и лактации достоверно снижает скорость роста потомства (10,5%, $p < 0,05$), наблюдается уменьшение двигательной активности (49,6%). Анализ плазмы крови показал тенденцию к увеличению концентрации аланинаминотрансферазы ($p = 0,1$), что свидетельствует о возможном повреждении гепатоцитов. Также прослеживается тенденция к увеличению концентрации маркера окислительного стресса МДА в мозге. Тест ЭИ не выявил достоверного снижения способности к экстраполяции у опытной группы ни по одному из параметров. Таким образом, пренатальная гипергомоцистеинемия нарушает морфофизиологические показатели у потомства. В то же время, тест ЭИ не выявляет нарушения когнитивных расстройств, описываемых в литературе.

Влияние компьютерной зависимости на функциональное состояние организма студентов Iго курса

Бамматмурзаева Джамия Магомедсаидовна

(ГОУ ВПО «Дагестанский государственный университет», Биологический факультет, кафедра анатомии, физиологии, гистологии, Россия, Махачкала, Djanka_90@mail.ru)

XXI в. – век информационных технологий. Без них трудно представить сегодня любую сферу деятельности человека. Информация для человека имеет огромное значение. Компьютер и Интернет является мощным инструментом обработки и обмена информацией, кроме того, благодаря компьютеру стали доступными различные виды информации. Некоторые люди стали настолько увлекаться виртуальным пространством, что начали предпочитать Интернет реальности, проводя за компьютером до 18 часов в день. Резкий отказ от Интернета вызывает у таких людей тревогу и эмоциональное возбуждение. Такая ситуация несомненно сказывается на здоровье человека, приводит к различным функциональным изменениям в организме.

В связи с этим, целью данного исследования явилось изучение особенностей функционального состояния организма студентов при компьютерной зависимости.

В исследовании приняли участие 65 студентов Iго курса, среди которых было проведено анкетирование на предмет компьютерной зависимости. Студенты были разделены на 2 группы, внутри которых проводилось исследование состояния дыхательной и вегетативной нервной системы.

По итогам анкетирования около 75% студентов Iго курса находятся в зависимости от компьютера. Исследование состояния легких указанной группы студентов свидетельствует о слабости их дыхательной системы по сравнению со студентами, не испытывающими компьютерную зависимость. Так, уровень ЖЕЛ (жизненная емкость легких) при компьютерной аддикции составляет 1,8-2,5 л (в норме 3-3,5 л); отклонение ЖЕЛ равно 24% (в норме – не превышает 15%); жизненный индекс также ниже нормы (55-60 мл/кг) и составляет 44 мл/кг. Оценка состояния здоровья по вегетативному тонусу показала как увеличение (от 13% до 30%), так и снижение (от 7% до 21%) индекса Кердо (в норме ИК находится в диапазоне от -10 до +10%). Известно, что повышение ИК отмечается при симпатикотонии, снижение – при ваготонии.

Полученные данные свидетельствуют о недостаточности дыхательной системы и сдвиге равновесия вегетативной нервной системы в группе студентов, находящихся в зависимости от компьютера.

Возрастные особенности электрогенеза скелетной мышцы у мышей mdx

Беляева Юлия Сергеевна

(Санкт-Петербургский Государственный университет, Биолого-почвенный факультет, кафедра общей физиологии, Россия, Санкт – Петербург, y.s.belyaeva@gmail.com)

Миодистрофия Дюшена – заболевание, связанное с дефицитом синтеза белка дистрофина. Лабораторной моделью для исследования данного заболевания являются мыши линии mdx. При работе с данными модельными объектами показано, что это заболевание ведёт к множественным патологиям мышечной ткани: дестабилизация мышечных дисков, резкое снижение складчатости постсинаптической мембраны, изменение локализации

постсинаптических никотиновых ацетилхолиновых рецепторов. Целью данного исследования является анализ и сравнение мышечного электрогенеза диафрагмы мышей дикого типа и мышей mdx (2, 4 и 6 месяцев), а также проследить динамику электрогенеза. Исследования проводились на изолированных френико-диафрагмальных препаратах самцов мышей обеих групп. Миниатюрные потенциалы концевой пластинки (МПКП) регистрировали внутриклеточно при помощи стандартной микроэлектродной техники. Оценивали амплитудно-временные параметры МПКП (время полуспада, восходящую фазу и амплитуду). В ходе экспериментов было выявлено, что амплитуда МПКП значимо снижается у 2 месячных mdx мышей по сравнению с контролем и значимо увеличивается у 6 месячных по сравнению с 2х и 4х месячными мышами mdx. Восходящая фаза МПКП существенно снижается у 4х и 6 месячных мышей по сравнению с контролем и 2х месячными mdx мышами, тогда как значимых различий между 4х и 6 месячными и контролем и 2 месячными не выявлено. Не наблюдалось общее снижение электрогенеза мышечного волокна, по сравнению с контролем. Аналогичные изменения наблюдали со временем полуспада. Наблюдаемая динамика амплитудно-временных характеристик МПКП свидетельствует о прогрессирующих изменениях в синаптическом районе нейро-мышечного контакта у mdx мышей.

Работа поддержана грантом РФФИ № (07-04-01027).

Влияние инсулин-зависимого сахарного диабета на констрикторные ответы изолированной подкожной артерии крысы

Болева Галина Сергеевна

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, Москва, gil8388@yandex.ru)

При развитии сахарного диабета (СД) наблюдаются изменения кровообращения как на системном, так и на региональном уровне. В частности, нарушается регуляция кожного кровотока, что ведет к развитию тяжелой патологии, которая получила название «диабетическая стопа». Вместе с тем, данных о регуляции тонуса сосудов кожи при СД в литературе очень мало. В связи с этим целью данной работы было исследовать влияние СД на констрикторные ответы подкожной артерии крысы. Эта артерия приносит кровь к стопе, она является артерией мышечного типа и имеет густую симпатическую иннервацию.

Инсулин-зависимый СД вызывали у самцов крыс линии Вистар с массой тела 230-250 г путем однократного введения стрептозотоцина (65 мг/кг внутривнутрибрюшинно), что приводило к стойкой гипергликемии (повышению концентрации глюкозы в крови до $26,35 \pm 2,08$ моль/л). Эксперименты проводили через 10-12 недель после введения стрептозотоцина. Артерию изолировали и перфузировали в режиме постоянного потока. Регистрировали реакции на раздражение интрамуральных симпатических нервов с частотой 2-15 Гц и на экзогенный норадреналин (НА, 0,07-0,62 мкМ). В начале эксперимента механически удалялся эндотелий, β -адренорецепторы блокировали пропранололом (1 мкМ). Для визуализации адренергических нервных волокон препараты артерии обрабатывали глиоксиловой кислотой и затем исследовали их люминесценцию.

Реакции артерии на раздражение нервов у крыс с СД были значительно уменьшенными по сравнению с контролем, что отражает развитие симпатической дисфункции. При частоте раздражения 15 Гц повышение перфузионного давления в контроле составило $77 \pm 11,7$ мм рт.ст., а у крыс с СД – лишь $27 \pm 4,8$ мм рт.ст. ($p < 0,05$). Вместе с тем, сужение артерии при активации постсинаптических α -адренорецепторов НА у двух групп крыс не различалось. Также не было обнаружено различий в интенсивности флуоресценции периартериального сплетения симпатических волокон.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что СД оказывает выраженное влияние на пресинаптические механизмы симпатической нейротрансмиссии, в то время как гладкая мышца сосудов менее подвержена изменениям. На исследованном нами сроке развития СД наблюдаются функциональные, а не структурные изменения симпатической иннервации артерий, приносящих кровь к коже.

Работа поддержана грантом РФФИ № 10-04-01723-а.

Артериовенозная разница (ABP) биохимических показателей крови, оттекающей от желудочно-кишечного тракта и притекающей к нему, у кроликов
Васильев Антон Павлович, Яковлева М.А., Ксенофонтов Д.А.

*(Московская Сельскохозяйственная Академия им. К.А.Тимирязева, Россия, Москва,
Anton.P.Vasilyev@gmail.com)*

Сохраняя постоянство состава, кровь, тем не менее, является достаточно лабильной системой, быстро отражающей происходящие в организме изменения, как в норме, так и в патологии, поэтому биохимические анализы широко применяются в практике ветеринарии и зоотехнии гематологические. В предыдущих исследованиях для определения интенсивности всасывания питательных веществ в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), анализировались биохимические показатели крови, оттекающей от ЖКТ по портальной вене, которая вбирает в себя кровь от всех отделов ЖКТ, поэтому судить о характере всасывания в том или ином отделе было невозможно. Целью нашей работы было определить значения некоторых биохимических показателей крови оттекающей от разных отделов ЖКТ, в сравнении с аналогичными показателями притекающей к ЖКТ крови. На кафедре физиологии и биохимии животных РГАУ-МСХА им. Тимирязева был проведён эксперимент на кроликах (12 гол.). Рацион согласно нормам состоял из 100 г комбикорма и 200 г сена в сутки на голову.

Под общим наркозом у кроликов была взята кровь из брюшной артерии, а также желудочной, дуоденальной, брыжеечной, левой ободочной и портальной вен. Затем с помощью универсального биохимического анализатора FaBio200 были определены показатели общего белка, альбуминов, триглицеридов, холестерина, глюкозы, кальция и фосфора. Анализ содержания общего белка в притекающей и оттекающей крови показал, что наибольшая ABP наблюдается между кровью брюшной артерии и кровью, оттекающей от двенадцатиперстной кишки (+3,35 г/л). Необходимо отметить, что белок в этой крови эндогенного происхождения, т.е. синтезирован самой стенкой ЖКТ. ABP в содержании белка обусловлена, прежде всего, большим количеством альбуминов (72,4% от общего белка; ABP альбуминов составляет +2,6 г/л). Большинство альбуминов участвует в транспорте питательных веществ. Возможно, и здесь они являются необходимыми для переноса абсорбированных мономеров. В отличие от белков уровень липидов гораздо выше в притекающей к пищеварительному тракту крови (2,22 mmol/l в брюшной артерии и 1,93 mmol/l в дуоденальной вене), это свидетельствует о том, что холестерин используется как энергетический и пластический материал клетками стенки кишечника. Наибольшая ABP по уровню триглицеридов наблюдается в крови, оттекающей от двенадцатиперстной кишки (+0,10 mmol/l), а наименьшая – в крови, оттекающей от тощего кишечника (+0,05 mmol/l), что, по-видимому, связано с более интенсивным транспортом жира через стенку ЖКТ. По глюкозе также наблюдается положительная ABP разница. Наибольшая её концентрация отмечается в крови, оттекающей от желудка и от ободочной кишки (ABP составляет +4,35 mmol/l и +6,24 mmol/l соответственно). Уровень кальция в крови, оттекающей от двенадцатиперстной и ободочной кишок выше (ABP составила +0,25 mmol/l и +0,27 mmol/l соответственно). Низкая ABP в других отделах связана, видимо, с кумуляцией кальция в химусе. ABP уровня фосфора в целом сходна с таковой по кальцию.

Влияние мультипробиотика "Симбитер ацидофильный концентрированный" на уровень интерлейкина 1 β в крови крыс в условиях стресса

Вирченко Александр Владимирович, Фалалеева Т.М.

(Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, Биологический факультет, Украина, Киев, ovirchenko@gmail.com)

Ранее нами было показано, что мультипробиотик "Симбитер ацидофильный концентрированный" ускоряет заживление стресс-индуцированных поражений слизистой оболочки желудка (СОЖ), однако механизм его действия не известен. В данной работе мы решили исследовать уровень интерлейкина 1 β (ИЛ-1 β) в сыворотке крови, концентрация которого увеличивается при стрессе, на фоне действия мультипробиотика Симбитер.

Исследование было проведено на 100 белых нелинейных крысах, которые были разделены на 10 групп по 10 в каждой: 1 – контроль; 2-10 - подвергались водно-иммобилизационному стрессу (ВИС) (3, 5, 7, 9 группам вводили 0,5 мл воды два раза в день (*per os*); 4, 6, 8, 10 - 0,5 мл водного раствора Симбитер в дозе 140 мг/кг два раза в день). В сыворотке крови крыс всех групп на 1, 2, 3, 4 день после ВИС определяли уровень ИЛ-1 β иммуноферментным методом с помощью набора GE Healthcare (Amersham IL-1 β Rat Biotrak ELISA System).

Было исследовано, что Симбитер значительно снизил уровень ИЛ-1 β в сыворотке крови крыс, который увеличился в условиях действия стресса. Этот эффект был достоверным уже на второй день: уровень ИЛ-1 β был ниже на 27% ($p < 0,05$) по сравнению с группой, которой вводили воду. Через 3 дня ИЛ-1 β в сыворотке крови крыс, которым вводили пробиотик, не отличался от такового в контрольной группе, в то время как в группах, которым вводили воду, этот показатель был выше на 62% ($p < 0,01$) и на 50% ($p < 0,05$) на третий и четвертый день соответственно по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, введение мультипробиотика Симбитер крысам после действия стресса уменьшает уровень ИЛ-1 β в сыворотке крови, что может быть одним из механизмов лечебного действия мультипробиотика на стресс-вызванные поражения СОЖ.

Авторы выражают искреннюю благодарность проф., д.б.н. Береговой Татьяне Владимировне и проф., д.б.н. Янковскому Дмитрию Станиславовичу за помощь, советы и материальную поддержку, оказанные в ходе выполнения данной работы.

Профиль светочувствительности и когнитивные стили ПнЗ-ПЗ

Галаудинов Марс Фларитович

*(Всероссийский центр глазной и пластической хирургии, Россия, Уфа,
mars.galautdinov@gmail.com)*

В работе описана апробация и применение оригинального теста регистрации светочувствительности (СЧ) при внешне заданных стратегиях принятия решения. Преимущество теста состоит в том, что снижение количества тестовых точек и сокращение времени проведения теста позволяет исследовать влияние когнитивных стратегий (естественный, свободный, жесткий), без потери информативности. Рассматриваются близость к той или иной стратегии от выраженности когнитивного стиля ПнЗ-ПЗ, при нем и миопии. Приводятся данные, количественно описывающие СЧ в горизонтальном профиле.

Обследовано 23 добровольца (19-31 год – 46 глаз). В проведенном исследовании испытуемые прошли определение остроты зрения, клинической рефракции, размеров глаз. В условия нормы вошли 21 глаз, 46%; миопии 25 глаз, 54%.

Для определения когнитивных стилей использовался тест включенных фигур Готшильда. Исследование СЧ проводилось на аппарате автоматической статической периметрии HFA II-750i (Carl Zeiss Meditec, Inc.; США) по оригинальным тестовым программам анализирующим точки по горизонтальной линии в центральной (0-30°) и периферической областях (30-65°), что в общей сумме составляет 16 точек. Для раскрытия естественной пороговой стратегии давалась стандартная инструкция, объясняющая принцип проведения исследования, но не касающаяся вопросов обнаружения порогового стимула. При формировании жесткого критерия давалась установка реагировать только на стимулы, в которых испытуемый полностью уверен, оставляя без внимания сомнительные стимулы. При свободном критерии разрешались реакции на любые стимулы.

Для здоровых и больных миопией характерно то, что не отличаются профили СЧ полученные при естественном и свободном критерия, но статистически достоверно отличаются от профиля СЧ при жестком критерии. Профили СЧ у индивидов, относящихся к ПнЗ, которые руководствуются своими ощущениями, не зависящими от внешних инструкций, показывают меньше различий между жестким и натуральным (или свободным) критериями, нежели ПЗ. При анализе горизонтальных профилей СЧ в норме и при миопии в большинстве точек (естественный критерий – 9 точек, 56%, жесткий критерий – 13 точек, 81%, свободный критерий – 9 точек, 56%) средний показатель СЧ был выше при миопии.

Благодарю своего научного руководителя Мухамадеева Р.А. за поддержку, ценные советы и помощь в проведенной работе.

Основные соматометрические и кардиогемодинамические показатели студентов города Степанакерта

Галстян Асмик Григорьевна

(Арцахский Государственный Университет, Химико-биологический факультет, Армения, Степанакерт)

Основной проблемой современного общества остается улучшение состояния здоровья человека, интегральными характеристиками которого являются антропометрические и функциональные константы организма. Популяционные исследования подтверждают важность изучения их в отдельных территориальных районах с целью обнаружения региональных особенностей. Особый интерес представляет юношеский возраст, когда интенсификация учебного процесса, все более возрастающий дефицит времени на освоение и переработку информации ведут к срыву механизмов адаптации.

Цель нашей работы – исследование антропометрических, гемодинамических показателей и оценка роста-весового соотношения студентов расчетом индекса Кетгле. В качестве обследуемых были выбраны 180 практически здоровых юношей и девушек города Степанакерта в возрасте 17-21 лет. Изучение материала производилось по общепринятой методике, полученный материал подвергнут статистической обработке и является достоверным ($p < 0,05$).

Анализ результатов данных обследования свидетельствует о соответствии их региональным возрастно-половым стандартам: длина тела (парни и девушки) – 174 ± 2.3 и 161 ± 1.7 см, масса тела – 63 ± 4.2 и 52 ± 3.1 кг. Последняя оказалась более вариабельным признаком (коэффициент вариации составил 12.6-20.6%), чем длина тела (3.9-4.3%). Анализ роста-весового соотношения показал, что ИМТ была свойственна лишь 3.3% студентов-парней и составила в общей структуре факторов риска развития заболеваний 0.7 %. Результаты анкетирования студентов, однако, указывают, что это связано не только с преувеличением расхода энергии над калорийностью питания и затратой ее на окончательные ростовые процессы, но и с гиподинамией. Данные гемодинамических показателей следующие: САД – 119 ± 2.8 и 105 ± 1.9 мм рт.ст., ДАД – 77 ± 3.0 и 68 ± 1.3 мм рт.ст., ЧСС – 76 ± 3.6 и 72 ± 0.7 уд/мин соответственно. Обращают на себя внимание высокостойкие половые различия во всех показателях ($p < 0.05-0.001$), за исключением ЧСС.

Полученный материал послужит базой для последующих наблюдений в динамике и организации профилактических мероприятий с учетом индивидуализированного подхода. Направленные изменения в студенческие годы вполне доступны путем изменения привычного образа жизни и имеют положительное влияние на повышение их адаптации к учебным нагрузкам..

Рециклирование синаптических везикул в нервно-мышечном синапсе лягушки при действии гиперосмотического раствора

Григорьев Павел Николаевич

(ГОУ ВПО Казанский ГМУ Росздрава, Россия, Казань, grigorievp@yahoo.com)

В синапсах выявлено несколько вариантов секреции медиатора и рециклирования синаптических везикул: экзоцитоз с последующим эндоцитозом, рециклирование по типу «kiss-and-run», а также экзо-эндоцитоз с участием эндосомальных структур. В настоящее время в литературе оспаривается возможность осуществления секреции медиатора по типу kiss-and-run в нейронах. В эндокринных клетках секреция по типу kiss-and-run подтверждена, в том числе при действии гиперосмотических растворов. В опытах на нервно-мышечных препаратах кожно-грудинной мышцы лягушки *Rana Ridibunda* с использованием электрофизиологического (внутриклеточная регистрация постсинаптических сигналов) и оптического (флуоресцентная конфокальная микроскопия) подходов исследовались процессы секреции медиатора и экзо-эндоцитоза синаптических везикул при увеличении

осмотичности раствора Рингера. Обнаружено, что добавление полиэтиленгликоля ($M_r \approx 3350$) в раствор Рингера дозозависимо увеличивало осмотичность и частоту миниаторных потенциалов концевой пластинки с $0.41 \pm 0.06 \text{ с}^{-1}$ (контроль) до $40.6 \pm 8.1 \text{ с}^{-1}$ (30 мМ полиэтиленгликоль в растворе Рингера). Стимуляция секреции медиатора гиперосмотическим раствором полиэтиленгликоля продолжительностью 1-5 мин в присутствии флуоресцентного красителя FM 1-43 (6 мкМ) не приводила к эффективному захвату красителя. В контрольных препаратах при стимуляции секреции медиатора гиперкалиевым раствором ($[K]_o = 40 \text{ мМ}$) продолжительностью 5 мин в присутствии FM 1-43 отмечались увеличение интенсивности свечения нервных окончаний и появление в них интенсивно флуоресцирующих пятен, что свидетельствует о варианте рециклирования везикул, затрагивающего экзоцитоз/эндоцитоз синаптических везикул. Экспозиция в гиперосмотическом растворе предварительно окрашенных FM 1-43 нервных окончаний не вызывала значимых изменений свечения и морфологии пятен, в то время как действие гиперкалиевого раствора приводило к быстрому падению свечения и исчезновению флуоресцирующих пятен. Полученные данные свидетельствуют о стимуляции гиперосмотическим раствором полиэтиленгликоля секреции медиатора по механизму kiss-and-run.

Исследование поддержано грантами РФФИ 11-04-00568-а и НШ-5250.2010.4.

Влияние биопрепаратов хитозана на активность перекисного окисления липидов при профилактике лучевой болезни
Ешкова Оксана Юрьевна

*(Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, Россия,
Нижегний Новгород, oksana2027@mail.ru)*

В настоящее время актуален поиск научно-обоснованных методов и средств, обеспечивающих адаптацию и повышение резистентности организма человека и животных к повреждающему действию радиации. Перспективным в этом направлении представляется создание биопрепаратов на основе природных биополимеров, в частности хитозана.

Цель работы - исследовать радиозащитное действие высокомолекулярного хитозана (ХТЗ) и комплекса "хитозан-золото" (ХТЗ-Au) при профилактическом пероральном введении экспериментальным животным перед однократным γ -облучением.

Работа проведена на белых нелинейных крысах самцах массой 220–250 г. Животные были разделены на 4 группы ($n=5$). Опытным группам вводили биопрепараты: 1-"ХТЗ" (M_o 130 кДа), 2-комплекс "ХТЗ- Au". Контрольная группа " γ -облучение" - введению препарата не подвергалась. За относительную норму принимались показатели интактных животных.

Препараты вводили в объеме 1 мл перорально в течение 7 дней с периодичностью 1 раз в сутки. Через неделю после окончания введения препаратов животные опытных и контрольной групп подвергались однократному γ -облучению в дозе 5 Гр. Забор крови осуществляли из подъязычной вены на 3 и 14 сутки после облучения и определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) - диеновых конъюгатов (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ) в плазме крови.

В результате эксперимента установлено, что на 3 сутки после облучения биопрепарат "ХТЗ-Au" достоверно снижал содержание ДК, ТК, ОШ по сравнению с показателями в контроле ($p < 0,05$), а "ХТЗ" уменьшал только уровень ОШ, т.е. проявлял слабую антиоксидантную активность. Через 14 суток интенсивность ПОЛ у животных группы "ХТЗ-Au" приблизилась к показателям интактных, что может свидетельствовать о завершении восстановительных процессов в организме. Более 50% животных из группы "ХТЗ" погибло, что указывает на непродолжительное радиопротективное действие биопрепарата.

Т.о. курсовое введение комплекса "ХТЗ-Au" перед однократным γ -облучением сопровождается развитием радиорезистентности за счет подъема активности защитных подсистем организма, в частности антиоксидантной.

Роль глицина в центральной регуляции полового поведения самцов крыс.

Журавлёва Зоя Дмитриевна

(Санкт-Петербургский государственный университет, Биолого-почвенный факультет, Санкт-Петербург, Россия, zhuravlyova.zoya@yandex.ru)

Медиальное преоптическое ядро (МПЯ), располагающееся в срединной зоне гипоталамуса, играет большую роль в запуске и регуляции полового поведения самцов. Наиболее изучена роль дофамина МПЯ в эректильной функции самцов, однако исследования на срезах мозга показали, что в МПЯ находится большое количество рецепторов к тормозному нейромедиатору глицину. Роль глициновых в регуляции полового поведения самцов млекопитающих изучена крайне слабо.

Целью данного исследования было исследование влияния микроинъекций глицина в МПЯ на параметры полового поведения самцов белых лабораторных крыс. Половозрелым самцам под общим наркозом производили хроническое стереотаксическое билатеральное введение 2-х канюль (0,2 мм каудально от брегмы, 0,5 мм, латерально от сагиттального шва, глубина 8,4 мм). Для каждого животного последовательно записывалась серия из трёх экспериментов – половое поведение до, после введения канюль и непосредственно после введения по 200 мкл 10 мкМ раствора глицина.

При анализе полового поведения подсчитывали количество маунтингов, интромиссий, а также количество фрикционных движений при интромиссии и при эякуляции, интервалы между интромиссиями, а также интервалы между эякуляциями в течение одного опытного дня. Было получено достоверное ($p < 0,001$) отличие количества фрикционных движений в интромиссиях ($4,05 \pm 0,17$) от такового в момент эякуляции ($15,7 \pm 4,85$). Билатеральная микроинъекция глицина в медиальное преоптическое ядро гипоталамуса приводила к значимому сокращению числа маунтингов по сравнению с интактными и каниюлированными самцами. Также было показано сокращение постэякуляторных пауз. На основании полученных результатов нами был выработан критерий точного определения момента эякуляции на основе количества фрикционных движений. На основе полученных данных можно предположить важную роль глицин в регуляции полового поведения самцов. Предполагаются дальнейшие эксперименты для регистрации более тонких изменений полового поведения самцов крыс под влиянием глицина различных концентраций.

Возрастные изменения макроэлементного состава костей у цыплят-бройлеров

Ильяшенко Артур Николаевич

(РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Зооинженерный факультет, Россия, Москва, arturbio@yandex.ru)

Нарушения в развитии опорно-двигательной системы у цыплят-бройлеров ведут к гибели животных в промышленных масштабах. Данная проблема является серьезным препятствием на пути развития интенсивного мясного птицеводства. Изучение минерализации скелета цыплят-бройлеров в процессе роста скелета позволит выявить нарушения ossификации костей с целью корректировки норм кормления птицы.

В опыте использовались цыплята-бройлеры кросса «Смена 7» - 40 голов. Концентрацию химических элементов в костях (бедренная, большеберцовая и грудная) определяли спектрофотометрическим методом.

Было установлено, что уровень минеральных веществ в трубчатых костях интенсивно увеличивается в первые 2 недели выращивания (с 26,8% до 38,7%), а в плоских первые 3 недели (с 9,6% до 30,4%). При этом наиболее выраженные изменения происходят в грудине, так как она имеет меньшее содержание золы в суточном возрасте по сравнению с трубчатыми костями. Накопление кальция в большеберцовой и грудной кости происходит асинхронно с общей минерализацией. С суточного до 3-недельного возраста уровень кальция в золе снижается с 56,8% до 38,6%, что является физиологическим отклонением, свидетельствующим о нарушении минерального обмена птицы. Концентрация фосфора в бедренной и грудной кости снижается в 1,5-2 раза в первую неделю, а в большеберцовой кости не меняется в течение остеогенеза, что снижает соотношение Ca:P, негативно сказываясь на прочности кости. Снижение уровня натрия в 1,5-2 раза происходило в первую

неделю жизни, общая динамика была схожа во всех костях. По содержанию калия выделялась грудная кость, в которой снижение элемента в первые трое суток составило 70%, в целом же, как и в случае с натрием содержание элемента в скелете с возрастом снижается. Концентрация магния в золе бедренных костей с возрастом увеличивается, а в золе большеберцовой и грудной кости снижается.

Минеральный состав различных костей скелета не одинаков. Большеберцовые кости цыплят бройлеров отличаются нарушением оссификации из-за возрастного снижения концентрации кальция в золе.

Морфофункциональные особенности физического развития школьников 11-13 лет г.Магадана в зависимости от соматотипа

Карандашева Виктория Олеговна

(НИЦ «Арктика» ДВО РАН, Россия, Магадан, arktika@online.magadan.su)

Цель исследования заключалась в изучении возрастной динамики основных показателей сердечно-сосудистой системы у детей с различными соматотипами. Было обследовано 135 мальчиков в возрасте 11-13 лет, учащихся общеобразовательных школ г. Магадана. Измеряли основные антропометрические параметры: длину тела, массу тела и показатели сердечно-сосудистой системы: частоту сердечных сокращений, систолическое артериальное давление, диастолическое артериальное давление, вегетативный индекс Кердо, двойное произведение. Проведенные исследования показали, что среди обследованных детей 67,41% относились к мезосоматическому типу, 15,15% - к микросоматическому, 17,03% - к макросоматическому. Исследование параметров сердечно-сосудистой системы показало, что среди детей 11-ти лет существенных различий не наблюдается. Дети с мезосоматическим типом занимают промежуточное положение между микро- и макросоматотипом по параметрам сердечно-сосудистой системы. Наибольшее количество отклонений в сторону микро- и макросоматотипов отмечено в возрасте 12-13 лет. Так у микросоматиков 12-13 лет систолическое артериальное давление составляет $98,71 \pm 4,9$ и $105,0 \pm 3,47$, а у макросоматиков $122,20 \pm 3,4$ и $116,67 \pm 2,50$ мм. рт. ст. соответственно ($p < 0,001$). Резкое увеличение артериального давления находит свое отражение в изменении длины и массы тела. У микросоматиков 12 лет длина тела и масса тела составляют $144,21 \pm 0,8$ и $32,41 \pm 1,2$, в 13 лет - $153,11 \pm 1,44$ и $38,31 \pm 1,39$ соответственно. У макросоматиков этого же возраста показатели равны $162,1 \pm 2,3$ и $55,63 \pm 2,2$, $170,75 \pm 3,14$ и $63,37 \pm 2,59$ соответственно. Это связано с первым ростовым скачком в этом возрасте, когда происходит максимальный прирост длины и массы тела. У микросоматиков 11-13 лет отмечено снижение диастолического давления по сравнению с другими соматотипами и составляет $65,71 \pm 1,9$, $67,57 \pm 2,9$ и $63,85 \pm 2,07$ соответственно. Частота сердечных сокращений у микросоматиков 11-12 лет практически не различается $73,43 \pm 3,6$ и $73,71 \pm 3,8$, зато в 13 лет она составляет $76,69 \pm 3,68$ уд./мин. У мезосоматиков 11-13 лет ЧСС составляет $75,22 \pm 1,7$, $77,46 \pm 2,5$ и $74,82 \pm 2,01$ соответственно. Самый большой показатель индекса кровообращения наблюдается у детей микросоматического типа, а наименьший у макросоматиков. Так в 11 лет он составляет $131,03 \pm 9,4$, в 12 лет - $121,72 \pm 7,2$ и $91,63 \pm 8,7$ в 13 лет - $131,31 \pm 8,82$ и $85,54 \pm 5,45$ мл/кг ($p < 0,001$). При анализе возрастных изменений вегетативного индекса Кердо обнаружено, что у микросоматиков 11-12 лет достоверных различий нет - $8,74 \pm 6,47$ и $7,27 \pm 5,5$, в возрасте 13-ти лет он повышается почти в два раза и составляет $15,36 \pm 3,30$. У макросоматиков составляет в 12 лет - $12,26 \pm 4,2$, в 13 лет - $16,40 \pm 7,49$. Важным показателем функциональных резервов сердечно-сосудистой системы является «двойное произведение» - индекс Робинсона. У микросоматиков 11-13 лет показатель имеет наименьшее значения, а у макросоматиков наибольшее: $76,03 \pm 4,85$, $72,91 \pm 5,43$ и $100,36 \pm 6,74$ ($p < 0,01$), $81,57 \pm 6,41$ и $94,49 \pm 6,47$ соответственно.

Влияние тяжелой гипобарической гипоксии на способность к обучению и рабочую память. Эффекты различных режимов гипоксического прекондиционирования.

Кислин Михаил Сергеевич

(УРАН Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН, Россия, Санкт-Петербург, kislin_m@mail.ru)

Тяжелые гипоксические воздействия и ишемия, наряду со структурными и функциональными нарушениями в структурах головного мозга, вызывают значительные патологии поведения у человека и животных, затрагивая, прежде всего, процессы, опосредующие обучение и память.

Исследования проводили на взрослых крысах-самцах линии Вистар весом 200-250г. Одна группа экспериментальных животных подвергалась только воздействию тяжелой гипобарической гипоксии (ТГГ) (3 часа в барокамере при 180-200 мм рт. ст.), а другие группы животных за 24 часа до данного воздействия прекондиционировали различными режимами умеренной гипобарической гипоксией. Прекондиционирование осуществлялось в трех режимах: одно-, трех- и шестикратном. Каждый сеанс прекондиционирования в барокамере длился 2 часа при 360 мм рт. ст., интервал между сеансами составлял 24 часа. В водном лабиринте Морриса у крыс через 30-60 мин. после ТГГ тестировали способность к обучению и рабочую память в бассейне с мутной водой. Ежедневно в течение 4 дней проводили пятикратное (с интервалом 5 мин) тестирование крыс (два предъявления). Животных случайным образом помещали в один из четырех секторов лабиринта, при этом местонахождение скрытой платформы менялось. Если крыса в течение 60с не находила платформу, её принудительно помещали на неё. Животное должно было находиться на платформе в течение 15с. Регистрировали латентный период избегания (время за которое животные обнаруживали платформу), дистанцию, скорость и процент нахождения в секторе с платформой. Исходя из полученных данных в водном лабиринте Морриса, возникла необходимость оценить пространственно-исследовательскую активность в тесте “Открытое поле” (диаметр 97см, высота 42см, поле освещалось 500 Вт люминесцентной лампой с высоты 2,5 м). При тестировании животных регистрировали горизонтальную двигательную активность, число стоек, груминг и число болюсов. Каждое животное тестировали по 5 мин последовательно в течение 4-х дней.

Полученные результаты свидетельствуют, что тяжелая гипобарическая гипоксия вызывает длительные нарушения способности к обучению и дефицит рабочей памяти. Данные нарушения наиболее полноценно корректирует трехкратное умеренное гипоксическое прекондиционирование.

Трехмерные матриксы на основе регенерированного шелка и гидроксиапатита

*Коньков Андрей Сергеевич¹, Архипова А.Ю.¹, Казюлина А.А.¹, Васильева Т.В.¹,
Мойсенович М.М.¹, Гузев В.В.², Агапов³ И.И.*

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, ²Клиническая больница №81 ФМБА России, Россия, Томск, ³ФНЦ трансплантологии и искусственных органов им. В.И. Шумакова, Россия, Москва, silk.implant@gmail.com)

Одной из важнейших задач в современной трансплантологии является разработка технологии создания биоискусственных органов на основе каркаса из биосовместимых полимеров. Каркасный белок коконов тутового шелкопряда *Bombix mori* фиброин – один из самых многообещающих материалов. С помощью уникальной технологии, включающей минерализацию, порообразование и специфический процессинг биополимера из фиброина была сконструирована трехмерная структура – матрикс. Матрикс был использован как основа для создания костного имплантата. В экспериментах *in vitro* была подтверждена способность матрикса поддерживать адгезию и пролиферацию эукариотических клеток. В опытах *in vivo* матрикс был имплантирован крысам со сквозным повреждением бедренной кости длиной 5 мм. В первой группе животным вводили в место повреждения неминерализованный матрикс, во вторую группу минерализованный, в третьей контрольной группе матриксы не вводили. Забой животных производили один раз в неделю в течение 28

дней после проведения операции. Кальцификация и заполнение дефекта анализировалась с помощью рентгенологического компьютерного томографа. Извлеченный костный материал в месте имплантации был подвергнут гистологическому исследованию. Будучи имплантированными оба типа матрикса продемонстрировали выраженный прогресс в костеобразовании уже на 3 неделе. Уровень васкуляризации был более выражен у минерализованного матрикса. Процессы восстановления повреждения в контрольной группе происходили существенно медленнее, особенно на ранних сроках.

Работа осуществлялась при поддержке РФФИ (09-02-00173) и Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках Федеральной целевой программы "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009 - 2013 год" по Государственному контракту № П2460 от 19.11.2009 г. и Государственному контракту № П816 от 24.05.2010 г.

Изменение регуляторных механизмов ритма сердца подростков в динамике учебной нагрузки

Ксаджикян Нарине Нерсесовна, Геворкян Э.С., Абрамян Э.Т.

(Ереванский государственный университет, Армения, Ереван, ksnarine@yandex.ru)

Проблема адаптации различных возрастных категорий школьников приобретает все большую актуальность. Анализ показателей здоровья подростков свидетельствует, что адаптация к учебным нагрузкам и успешность обучения достигаются чрезмерным напряжением функциональных систем организма, что нередко становится причиной появления функциональных расстройств и формирования патологии.

Исследование проводилось с участием здоровых подростков - семиклассников лица Нерсисян города Эчмиадзина. Обследования проводились в динамике однодневной и недельной учебных нагрузок. Изучались показатели ЭКГ учащихся методом вариационной пульсометрии Р.М.Баевского. Рассчитывались интегральные показатели сердца.

К концу учебного дня отмечались существенные сдвиги изученных показателей, особенно у девочек. К концу учебного дня, в понедельник, наблюдалось достоверное понижение индекса напряжения (ИН) на 35.7% ($p<0.05$), обусловленное ослаблением активности симпатического контура регуляции (АМо) на 21.5 % ($p<0.05$), при повышении влияния гуморального (Мо) и парасимпатического (ΔХ) звеньев на 7.63%, ($p<0.05$) и 5.21% соответственно. Последнее сопровождалось понижением ВПР (вегетативный показатель ритма), ПАПР (показатель адекватности процесса регуляции), ИВР (индекс вегетативного реагирования) на 8.3%; 15,12% ($p<0.01$); 20.8% ($p<0.01$). При анализе изменений наблюдаемых в той же группе испытуемых под воздействием учебной нагрузки в субботу отмечены более выраженные сдвиги исследованных показателей ритма сердца.

Изменения наблюдаемые под воздействием однодневной учебной нагрузки свидетельствуют о децентрализации процессов регуляции сердечным ритмом, преобладании парасимпатического тонуса ВНС (вегетативная нервная система) в пределах автономного контура регуляции сердечным ритмом, усилении гуморально-метаболических влияний. Последнее является результатом развивающегося под воздействием учебной нагрузки утомления. Более выраженные сдвиги изученных показателей, наблюдаемые после занятий в конце учебной недели, могут быть следствием кумуляции утомления в динамике недельной учебной нагрузки.

Анализ умственной работоспособности у студентов в течение недели

Кудрицкая Оксана Александровна, Лапинская Е.В.

(Учреждение образования «Белорусский государственный педагогический университет им. М. Танка», Беларусь, Минск, kovalyovu@mail.ru)

Уровень умственной работоспособности один из важнейших показателей не только эффективности профессиональной деятельности человека, но и его здоровья. Чем он выше, тем с меньшим напряжением организма удается выполнять соответствующую работу. В более узком смысле работоспособность - способность I сигнальной системы выдерживать длительные максимальные нагрузки. В таком понимании умственную работоспособность

лучше всего интерпретировать в терминах, характеризующих нервную деятельность, т.к. её основные свойства и закономерности определяют динамику формирования и функционирования систем связей, являющихся физиологическим коррелятом умственной деятельности. В течение работы умственная работоспособность меняется с определенной, свойственной индивиду, закономерностью. Поэтому важно знать свои особенности ее динамики, чтобы отдалить наступление утомления, особенно в условиях вызывающего напряжение психических процессов информационного стресса. При наступлении утомления предпринять необходимые меры для эффективного восстановления работоспособности посредством активного отдыха (перехода к другим видам деятельности, переключение внимания, повышение эмоционального фона). В задачу нашего исследования входило изучение умственной работоспособности и определение внимания, объема и скорости переработки зрительной информации в течение недели у студентов 3 курса, занимающихся в 1 смену. Для определения изменения изучаемых показателей на протяжении каждого рабочего дня задание полагалось выполнить после второй пары занятий. Для определения изменения работоспособности применяли методику Э. Крепелина и методику определения внимания, объема и скорости переработки зрительной информации, дозирования заданий по буквенным таблицам Анфимова. Статистическую обработку данных проводили с помощью электронных таблиц MS Excel 2003 и прикладного пакета STATISTICA 6.0. Сопоставление данных качественных и количественных показателей работоспособности, полученных на протяжении учебной недели у студентов, позволяет отметить вначале возрастание уровня работоспособности от понедельника – к среде и четвергу, а затем снижение к пятнице и субботе. Особенно заметные изменения наблюдаются в субботу – происходит значительное снижение скорости и объема переработки зрительной информации. От понедельника к четвергу происходит увеличение количественного показателя работоспособности, а от четверга к субботе его снижение. Количество допущенных ошибок имеет обратную динамику, уменьшаясь к середине недели и возрастая к субботе. Таким образом, на протяжении учебной недели работоспособность претерпевает характерные изменения. В понедельник и вторник она невелика, что соответствует фазе вратывания. В среду и четверг отмечается наиболее высокий уровень работоспособности (фаза устойчивого состояния), причем четверг – переломный день. В пятницу начинается падение работоспособности (фаза снижения), в субботу она наиболее низкая. Эти особенности изменения работоспособности в течение учебной недели необходимо учитывать при составлении расписания занятий студентов. Проведенная работа имеет не только теоретический интерес, но и дает возможность, опираясь на многие закономерности умственной работоспособности, разрабатывать меры по предупреждению быстрого ее снижения, отдалению утомления и укреплению здоровья.

Прогнозирование надежности работы человека по характеру суточной активности организма

Куль Александр Васильевич

*(Национальный технический университет Украины КПИ, Межуниверситетской
Медико-инженерный факультет, , Украина, Киев, olexandr.kul@gmail.com)*

Качественный прогноз состояния человека, как urgentный, так и долговременный может заметно повысить надежность функционирования человеко-машинных систем (Горго, 1999). Одним из универсальных методов оценки особенностей типа функционирования систем организма является характер биоритмологической активности человека (Горго, 1999). По изменениях характера суточных колебаний электрических потенциалов (ЭП) в зонах Захарьина - Гада, дифференциальной цветовой чувствительности (ДЦЧ) к красному, зеленому и синему цветам (Веклич О.К., Матюхин, 1977) и показателям оперативной кратковременной (Горго, 1999) памяти прогнозировалось качество надежности (КН) в деятельности у 40 мужчин.

Оказалось, что циркадные ритмы ДЦЧ носят наименее правильный характер и выражены слабее всего. Только у 4-х испытуемых они были неизменны в течение всего периода обследования. У остальных минимумы и максимумы ДЦЧ в различные дни

приходились на разное время суток. Суточные колебания ДЦЧ к красному цвету более экзвизитны, циркадные ритмы ЭП были регулярны и хорошо выражены. Хорошие показатели роботы отмечались у испытуемых в часы, совпадающие с максимумом величины ЭП в зонах Захарьина – Геда.

Самый высокий КН внутри каждой группы отмечался у лиц, имеющих максимальный суточный размах показателей кратковременной памяти и ЭП.

Таким образом, можно сделать выводы, что:

-характер циркадных ритмов электрических потенциалов человека определяет его возможности; наиболее пригодные к деятельности в сложных условиях люди из относительно стабильными значениями статических электрических потенциалов в активных зонах кожи на протяжении суток;

-для лиц с определенным суточным ритмом статических электрических потенциалов в активных зонах кожи благоприятным для работы является период, во время которого отмечены максимальные амплитуды СТЕП, а также высокие значения показателей кратковременной памяти.

Выражаю искренние слова благодарности научному руководителю профессору Горго Юрию Павловичу за хлопотливый и выдающийся труд в координации научно-исследовательской работы.

Влияние гипероксии на поглощение кислорода организмом в замкнутом пространстве

Лагунов Павел Владимирович

(Государственный научный центр РФ институт медико – биологических проблем РАН, Россия, Москва, lagunov-moscow@yandex.ru)

При повышении парциального давления кислорода во внешней среде изменяется кислородный режим организма. Пребывание в гипероксической среде приводит к увеличению напряжения кислорода в жидких средах организма: плазма крови — межтканевая жидкость — внутриклеточная среда. Кислородная емкость жидких сред увеличивается, поскольку возросший кислородный поток из крови превышает потребление кислорода в тканях.

Изучение потребления кислорода в замкнутом пространстве может моделировать ситуации нахождения человека в космическом корабле, подводной лодке, ситуации после землетрясений при разрушении и изоляции человека, при производственных работах в емкостях и другие ситуации. В настоящее время достаточно подробно изучен вопрос потребления кислорода в покое и при физической нагрузке. Но сравнительно мало данных о динамике потребления кислорода при различных уровнях гипероксии в заведомо замкнутом пространстве при его потреблении организмом (Зальцман и др., 1970, Смолин, 2001).

Результаты проведенных исследований позволили получить новые данные по эффектам действия измененных газовых сред (гипероксическая), по сравнению с дыханием воздухом на эффекты поглощения кислорода организмом. В результате проведенного исследования установлено, что при дыхании гипероксической смесью потребление кислорода меньше, чем при дыхании воздухом.

Онтогенетические особенности морфофизиологического состояния продуктивных животных в биогеохимических условиях Центра Чувашии

Лежнина Марина Николаевна, Блинова А.Д.

(Чувашский государственный педагогический университет им. И.Я. Яковлева, факультет Естествознания и Дизайна среды, Россия, Чебоксары, terinochek@rambler.ru)

Разработка, апробация и внедрение новых биогенных соединений отечественного производства, вызывающих иммунофизиологические и метаболические эффекты организма с учетом биогеохимического своеобразия регионов России, является актуальной проблемой современной биологии и биотехнологии.

Цель – изучить онтогенетическую специфичность роста тела, гематологического и биохимического профилей у хрячков и боровков, содержащихся при комбинированном назначении «Трепела» и «Суvara» с учетом биогеохимических особенностей Чувашского Центра.

Проведена серия научно-хозяйственных опытов и лабораторных экспериментов с

использованием 20 поросят-сосунов по 10 животных в каждой группе. Хрячков обеих групп с 2- до 59-дневного возраста выращивали вместе с подсосными свиноматками. Затем после кастрации боровков первой группы (контроль) с 60- до 300-дневного возраста содержали на основном рационе (ОР); животным второй группы на фоне ОР ежедневно скармливали «Трепел» в дозе 1,25 г/кг массы тела (м. т.) до конца исследований и «Сувар» из расчета 25-50 мг/кг (м.т.) в течение каждых 20 дней с 10-дневными интервалами до 240-дневного возраста. В ходе опытов у 5 животных из каждой группы на 2-, 15-, 60-, 240- и 300-й день жизни (соответственно периоды новорожденности, молочного кормления, полового созревания, физиологического созревания) изучали клинико-физиологическое состояние, рост тела, гематологическую и биохимическую картину по общепринятым в физиологии современным тестам.

При анализе динамики роста, гематологического и биохимического профилей у контрольных животных в постнатальном онтогенезе выявлено, что масса тела за периоды новорожденности, молочного кормления, полового и физиологического созревания увеличивалась соответственно на 62,3, 54,2, 82,9 и 18,8%. Отсюда следует, что максимальная интенсивность роста тела имела место в фазу полового созревания, минимальная – в период физиологического созревания. Аналогичная закономерность выявлена в характере колебаний среднесуточного прироста массы тела, который за исследуемые периоды онтогенеза составил $365 \pm 17,73$ г, $309 \pm 2,23$, $452 \pm 6,46$ и $379 \pm 7,35$ г соответственно. Динамика коэффициента роста в целом соответствовала характеру изменений среднесуточного прироста массы тела. Выявлено, что у интактных животных количество эритроцитов менялось в убывающей последовательности: от фазы новорожденности к концу периода молочного кормления на 27,8% ($P < 0,001$); к концу периодов полового и физиологического созревания на 2,4 и 1,2% соответственно ($P > 0,05$). В то же время уровень гемоглобина в возрастном аспекте увеличился волнообразно: от начала периода новорожденности к концу периодов новорожденности, молочного кормления, полового и физиологического созревания соответственно на 10,5, 4,0, 6,6 и 5,4% ($P < 0,001$). Иная закономерность обнаружена в динамике числа лейкоцитов у контрольных животных в изучаемые периоды постнатального онтогенеза. Так, от периода новорожденности к периоду молочного кормления оно возросло на 15,7% ($15,6 \pm 0,17$ против $18,5 \pm 0,14$ тыс/мкл), а к концу периода физиологического созревания снизилось до $17,0 \pm 0,11$ тыс/мкл ($P > 0,05$). Установлено, что уровень глюкозы у животных постепенно нарастал по мере их взросления. Если повышение в периоды новорожденности и молочного кормления составило 52,7 ($P < 0,001$), то в периоды полового и физиологического созревания – 9,1% ($P < 0,05$).

Выявленные особенности динамики роста, гематологического и биохимического профилей в разные периоды постнатального онтогенеза у контрольных животных в основном имели место и у их сверстников опытной группы, но на более высоком уровне ростовых и иммунофизиологических процессов, обусловленных назначением испытуемых биогенных веществ.

Работа поддержана на конкурсе «У.М.Н.И.К.» Фондом содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере № 13960.

Влияние модификаций А-кольца пентациклических аналогов прогестерона на сродство к мембранному рецептору прогестерона человека альфа (hмPR α)

Лисанова Ольга Владимировна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, olga-lisanova@yandex.ru)

Прогестерон является абсолютно необходимым гормоном для поддержания беременности. Основные механизмы модуляции экспрессии генов были показаны при изучении связывания прогестерона со своим ядерным рецептором. Однако исследования последних лет показывают, что немаловажную роль в регуляции ряда жизненно важных функций играет связывание прогестиннов со своими мембранными рецепторами, которых в настоящее время клонировано три типа: α , β , γ . Знание лигандсвязывающих свойств этих рецепторов является необходимым условием для создания селективных аналогов

прогестерона, которые могут найти применение в практике акушерства и гинекологии, а также онкологии.

С целью создания системы анализа лигандсвязывающих свойств hмPR нами были сконструированы плазмидные векторы, содержащие вставки нуклеотидной последовательности, кодирующие три изоформы hмPR человека, и экспрессированы в пекарских дрожжах. Лигандсвязывающие характеристики изоформы hмPR α в мембранной фракции клеток были получены методом конкурентного белковосвязывающего анализа с использованием [³H]-прогестерона. Изучение конкурентной активности синтетических аналогов прогестерона дало основание полагать, что некоторые модификации в положении 3 стероидной молекулы, а также насыщение кольца А, повышают сродство соединений к hмPR α и снижают сродство к ядерному рецептору прогестерона. Полученные результаты позволяют предполагать наличие существенных различий в строении лигандсвязывающего кармана hмPR α и ядерного рецептора прогестерона, которые могут служить основой для создания высокоизбирательных аналогов прогестерона, действующих на клетку с использованием либо геномного, либо негеномного пути.

Некоторые аспекты нейромедиаторной регуляции люминесценции элитр полихеты *Harmothoe imbricate*

Малышев Антон Викторович, Марченкова А.А.

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, malyshev89@gmail.com)

Широко распространенная полихета *Harmothoe imbricate* обладает способностью к биолюминесценции. Её люминесцентными органами являются чешуйки, прикрывающие спинную поверхность – элитры. Элитра начинает люминесцировать при механическом раздражении или сбрасывании. Испускаемый элитрой свет, видимо, способствует отвлечению хищника при нападении на полихету.

Элитра является сложно устроенным органом - она имеет иннервацию, нервный ганглий, фотогенную ткань. Процесс сбрасывания элитры и инициации люминесценции контролируется нервной системой. Вероятно, высвобождение медиаторов из нервных окончаний в элитре, их связывание с рецепторами в фотогенных клетках приводит к активации люминесценции. Нейромедиаторные механизмы данного процесса малоизучены.

В данной работе была предпринята попытка выяснения роли некоторых нейромедиаторов и их рецепторов в регуляции люминесценции. Была исследована способность ацетилхолина (АЦХ), ГАМК, глутамата, адреналина, а также некоторых селективных агонистов адренорецепторов усиливать или подавлять свечение, изменять временной ход свечения элитры. Работа выполнена на Беломорской Биологической Станции им. Перцова (МГУ). В работе было использовано более 50 особей *Harmothoe imbricata*; в каждой экспериментальной группе число животных составило не менее 3, число элитр – не менее 20. Свечение элитр регистрировали с помощью люминометра Hidex 11011.

В ходе работы установлено, что глутамат и ГАМК в диапазоне концентраций от $1 \cdot 10^{-6}$ М до $1 \cdot 10^{-4}$ М не оказывали влияния на интенсивность люминесценции и не изменяли временной ход затухания свечения. АЦХ в диапазоне концентраций $1 \cdot 10^{-4}$ М - $1 \cdot 10^{-2}$ М также не оказывал влияния на люминесценцию. При использовании антихолинергических соединений интенсивность люминесценции элитр снижалась. Можно предположить, что фотогенные клетки обладают рецепторами к АЦХ.

Адреналин в диапазоне концентраций $1 \cdot 10^{-6}$ М - $1 \cdot 10^{-4}$ М в различных экспериментах оказывал незначительное, разнонаправленное влияние на люминесценцию. Однако, селективные агонисты адренорецепторов альфа- (ксилотетазолин) и бета-подтипа (изопротеренол) статистически значимо ($P(U) < 0.05$) изменяли интенсивность свечения. Ксилотетазолин увеличивал интенсивность, в то время как изопротеренол, наоборот, вызвал подавление люминесценции.

Можно предположить, что фотогенные клетки обладают несколькими подтипами адренорецепторов, принимающими участие в регуляции люминесценции. Отсутствие однозначного эффекта адреналина может быть связано с тем, что в высокой концентрации

он активирует все подтипы аденорецепторов. Аденорецепторы, способствующие подавлению люминесценции могут выполнять свою функцию, в тех условиях когда, после незначительного механического раздражения, сопровождаемого слабым свечением, элитра остается прикрепленной и сохраняет свой потенциал.

Таким образом, регуляция люминесценции элитра полихет, видимо, определяется действием классических нейромедиаторов – адреналина и ацетилхолина.

Морфо-функциональная оценка состояния мышц голени крыс при изменении режима опоры.

Мингазов Эдуард Рафилович, Кузнецов М.В., Хайруллин А.Е.

(Казанский (Приволжский) федеральный университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Казань, edik173@mail.ru)

В условиях антиортостатического вывешивания поперечнополосатые мышцы млекопитающих испытывают драматические структурно - функциональные изменения. Одной из актуальных задач является предотвращение разрушения белков в саркомерах поперечнополосатых мышц.

Целью нашей работы стала оценка функциональной активности трехглавой мышцы голени (*m.soleus*, *m.gastrocnemius*) и определение содержания тайтина в условиях моделируемой гравитационной разгрузки (вывешивание) и при сочетании разгрузки с ежедневной 3-х часовой опорой (высаживание).

В данной работе для моделирования гравитационной разгрузки использовалась модель Morey-Holton Y.R.(2002). Через 7 суток воздействия микрогравитации методами стимуляционной миографии оценивали состояния периферической части звена нервно-мышечного аппарата, регистрировали М-ответ *m.soleus* и *m.gastrocnemius*. Проводился электрофоретический и иммунологический анализ тайтина *m.soleus*, каждой группы крыс.

Результаты исследования показали, что амплитуда моторного ответа *m.soleus* крыс группы с 7 суточной гравитационной разгрузкой уменьшилась до 43%, относительное содержание тайтина составило $0,108 \pm 0,010$, по сравнению с контролем $0,138 \pm 0,017$, которыми являлись интактные животные. Предоставление ежедневной 3 часовой опоры увеличило содержание тайтина в *m.soleus* крыс и составило $0,131 \pm 0,010$, амплитуда моторного ответа уменьшилась на 18%. Изменение параметров М-ответа и относительное содержание тайтина в *m.gastrocnemius* оказались не значительными по сравнению с изменениями, происходящими в *m.soleus*.

Таким образом, полученные данные показали, что изменениям в условиях моделируемой гравитационной разгрузки более подвержена *m.soleus*, чем *m.gastrocnemius*. Параметры электрических ответов, а, следовательно, и сократительная способность мышц зависит от содержания относительного количества тайтина в мышцах. Предоставление ежедневной 3-х часовой опоры предотвратило деградацию белка в мышцах крыс и увеличило их сократительную способность.

Относительное содержание альфа-актинина-2 в волокнах камбаловидной мышцы крысы при функциональной разгрузке и восстановлении

Мирзоев Тимур Махмашарифович

(ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Россия, Москва, tmirzoev@yandex.ru)

В условиях гравитационной разгрузки в постуральных мышцах млекопитающих наблюдаются атрофические процессы, связанные с активацией механизмов протеолиза цитоскелетных белков. Увеличение базального содержания ионов кальция обуславливает активирование системы кальций-зависимых протеаз – кальпаинов, вызывающих деградацию белков мышечного волокна. Белок саркомерного цитоскелета - альфа-актинин-2 - играет важную роль в поддержании структуры Z-диска сократительного аппарата мышечного волокна. Поэтому цель данной работы заключалась в оценке содержания альфа-актинина-2 в волокнах камбаловидной мышцы крысы в условиях гравитационной разгрузки и последующего восстановления.

В эксперименте использовались самцы крыс породы Вистар, которые были разделены на 3 группы: «виварный контроль», «14-суточное антиортостатическое вывешивание»(14HS), «14-суточное вывешивание+3-суточное восстановление»(14HS+3R). Функциональную разгрузку моделировали путем антиортостатического вывешивания задних конечностей по Morey-Holton. Относительное содержание белка определяли методом гель-электрофореза с последующим иммуноблоттингом со специфичными антителами.

После вывешивания имело место достоверное уменьшение содержания альфа-актина-2 на 25% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. В группе 14HS+3R отмечали дальнейшее снижение уровня содержания белка в сравнении с группой 14HS+3R (на 59% по сравнению с контролем, $p < 0,05$). Полученный результат свидетельствует о том, что гравитационная разгрузка привела к значительной деградации альфа-актина-2 в мышечных волокнах крыс. Было также установлено, что восстановление в течение 3-х суток не остановило процесс разрушения белка, напротив, содержание альфа-актина-2 продолжало снижаться. Это может быть связано с тем, что резкое повышение электромиографической активности мышцы после разгрузки запускает процессы протеолиза схожие с теми, которые имеют место при эксцентрической нагрузке.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ-ИМБП РАН и грантом РФФИ 10-04-00106а.

Изучение адренореактивности при адаптации к холоду

Мирюк Михаил Николаевич

(Институт медико-биологических проблем РАН, Россия, Москва,

mikhail.miruk@gmail.com)

При адаптации к холоду норадреналин и адреналин усиливают термогенез, но мало изучена сравнительная их характеристика при действии на периферические артерии. Поэтому, были проведены опыты на кроликах, у которых методом аутоперфузии постоянным объемом крови регистрировали изменение перфузионного давления артериального русла задней конечности на внутриартериальное введение восьми возрастающих доз норадреналина и адреналина после 30-и дней холодовой адаптации. Для выяснения механизмов изменения реактивности артериальных сосудов к норадреналину и адреналину животных после 30-дневной холодовой адаптации и количественной оценки реактивности артерий производился анализ изменений перфузионного давления в двойных обратных координатах Лайнувера-Берка, что позволяло определить чувствительность и количество активных адренорецепторов.

Максимально возможная (Рм) прессорная реакция артерий конечности к норадреналину после 30-дневного охлаждения уменьшилось на 20% по сравнению с контрольной группой ($P < 0,05$). Чувствительность реактивности артериальных сосудов к норадреналину после 30-дневного охлаждения была $1/K=1.2$, в контроле этот параметр был равен $1/K=1.2$. Таким образом, после 30-и дневного охлаждения чувствительность артерий к норадреналину стала равна величине чувствительности контрольной группы.

После 30-и дней адаптации к холоду прессорная реакция артерий конечности на все дозы адреналина достоверно ($p < 0.05$) превышала реакции на норадреналин.

Максимально возможная (Рм) прессорная реакция артерий е после введения адреналина $Рм=294$ мм.рт.ст., в контрольной группе животных $Рм=222.2$ мм. рт.ст. Таким образом, количество активных альфа-адренорецепторов к адреналину увеличилось с $Рм=222$ мм.рт.ст. в контроле до $Рм=294$ мм.рт.ст. после 30-дневного охлаждения, то есть количество активных рецепторов увеличилось в 1.32 раза или возросло на 32% по сравнению с контрольной группой.

Чувствительность альфа-адренорецепторов к адреналину $1/K=1.2$ (1/мкг.кг) после 30-дневного охлаждения стала опять такой же, как до холодовой адаптации.

Сравнительный анализ реактивности адреналина с норадреналином на артерии конечности показал, что на 30-й день холодовой адаптации прессорная реакция на адреналин на все дозы была больше чем на норадреналин на 54% или в 2,15 раза исключительно за счет увеличения количества активных альфа-адренорецепторов к адреналину в 1,32 раза.

Адреналин увеличил прессорные реакции на артерии после 30-и дней холодовой адаптации, а норадреналин наоборот их все снизил по сравнению с контрольной группой. Эти изменения, по нашему мнению, ведут к усилению прогревания периферических тканей за счет увеличения кровотока при действии холода на фоне увеличенной секреции норадреналина. В то же время, при значительном усилении холода начинается секреция большего количества адреналина и это приводит к сокращению артерий и уменьшению прогрева (опасность отморожения) тканей, здесь адреналин выступает как гормон резерва сохранения тепла в организме.

Биоэнергетика мелких воробьиных в зимний период в Центральной Якутии
Мордосова Надежда Иннокентьевна
(Северо-восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Россия, Якутск,
sparrow_passer@rambler.ru)

В центральной Якутии перепады температуры в год составляют 100⁰С: от +40⁰ до -60⁰. В зимний период успешность существования мелких воробьиных во многом зависит от способности к поддержанию энергетического баланса при коротком световом дне и низких температурах воздуха. Температура тела данной группы птиц мало изучена. Температурный фактор выступает как важнейшая составная часть энергетического баланса организмов. За крайне короткий кормовой день птицам необходимо потребить и усвоить такое количество пищи, чтобы обеспечить существование в течение дня, длинной холодной ночи и обеспечить энергией до начала кормового сезона.

Содержание птиц – клеточное, в естественных температурных условиях. Измерение температуры тела проводили при помощи имплантируемого под кожу птицы температурного датчика (производство Японии), измерения выполняли ручным сканирующим устройством, считывающим измеряемую величину при приближении к телу птицы на расстоянии 2-4 см от датчика. Был проведен суточный мониторинг по температуре тела, показания снимали с двух видов птиц: полевой воробей (*Passer montanus* Linnaeus, 1758) и обыкновенный снегирь (*Pyrrhula pyrrhula*, Linnaeus, 1758).

Период с повышенной температурой тела продолжался с 9 до 17 ч, и по времени полностью совпадал с периодом двигательной активности птиц. Присутствует положительная корреляция между температурой среды и тела, коэффициент корреляции положительный – составил 0,7. У полевого воробья в ночное время (с 21 ч до 4-5 ч) отмечено понижение температуры тела ниже 40⁰С. Температура тела снегиря ниже 40⁰С на протяжении суток была отмечена в вечерне-ночные часы. После 18 ч. температура тела снегиря не поднималась выше 39,5⁰С до утра. Наиболее высокие температуры отмечены в утренние часы, затем температура тела постепенно снижалась.

Мелкие воробьиные в зимнее время в естественной среде существуют с пониженной температурой тела. Зимой в ночные часы у исследованных видов присутствует выраженная суточная гипотермия. Вероятно, способность к ночевке с пониженной температурой тела является эколого-физиологическим механизмом, позволяющим мелким оседлым птицам Якутии успешно переживать периоды с неблагоприятными температурными условиями.

Теория и практика применения осциллометрического метода измерения венозного давления.

Пойда Михаил Дмитриевич¹, Вчерашний Д.Б.², Кейер Ф.Н.¹

¹Санкт-Петербургский государственный университет, Медицинский факультет,

*²Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Россия, Санкт-Петербург,
*poidan@mail.ru**

Осциллометрический метод измерения периферического венозного давления позволяет неинвазивным способом оценивать динамику венозного давления (ВД) и других показателей системы кровообращения.

Целью настоящей работы было обоснование и применение метода для регистрации динамики периферического венозного давления и основных параметров кровотока при проведении плазмофереза у доноров.

В рамках данной цели решены следующие задачи:

1. Дано теоретическое обоснование использования осциллометрического метода Н. Н. Савицкого для измерения венозного давления;
2. Проведено динамическое наблюдение за колебаниями ВД до и после процедуры плазмофереза у доноров;
3. Произведен математический анализ изменений данных показателей.

Осциллометрический метод измерения основан на регистрации колебаний и сравнении изменений мгновенных значений давления в измеряемом сосуде с нарастающим давлением в измерительной манжете, значения которого регистрируются осциллометрической кривой. Данный принцип широко используется для определения артериального давления (АД). Показана возможность использовать этот же метод для регистрации венозного пульса. Природа регистрации аналогична измерению АД, но смещена по шкале давления в зону более низких значений, что накладывает дополнительные условия для корректного проведения измерения.

Исследование выполнено в отделении плазмофереза Городской больницы г. Минска. Было обследовано 12 доноров в возрасте 21-51 года обоего пола. В качестве контрольных, использовались результаты исследований, проведенных на здоровых людях в возрасте 18-22 лет, а также данные по верификации результатов измерения периферического венозного давления осциллометрическим способом путем сравнения с инвазивным методом.

Измерения проводились с помощью аппарата КАП ЦГосм - «Глобус». Манжета накладывалась по аналогии с обычными тонометрическими измерениями АД. Анализ полученных данных был произведен при помощи пакета программ, прилагающихся к данному прибору.

Показано, что у доноров после проведения процедуры плазмофереза имеет место понижение значений периферического венозного давления в диапазоне 0,6-4,0 мм рт.ст.. Изменялись также периферическое сосудистое сопротивление и объемная скорость кровотока. Плазмоферез сопровождается утратой некоторого количества плазмы, что приводит к снижению общей вязкости крови. Такое изменение реологии крови уменьшает нагрузку на сердечную мышцу.

Проведены измерения ВД и основных реологических показателей осциллометрическим методом у доноров. Верификация произведена путем сравнения полученных данных с результатами инвазивных измерений. Осциллометрический метод инвариантен относительно резистивной и емкостной частей сосудистого русла. Метод позволяет быстро и неинвазивно получить данные о ВД, которые могут применяться как при диагностике состояния больного, так и при мониторинге эффективности проводимого лечения.

Выяснение ионного механизма холинергической невозбудимости в предсердном миокарде трески

Порохня Мария Викторовна, Лошинская А.А.

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, tavunywka@mail.ru)

Парасимпатическая регуляция сердечной деятельности крайне важна для нормального функционирования сердца, в особенности велика ее роль у рыб в связи с относительно слабым развитием симпатической иннервации сердца. Холинергическая невозбудимость – это постепенное снижение амплитуды потенциалов действия (ПД) под действием ацетилхолина (АХ), основного медиатора парасимпатической нервной системы, вплоть до полного подавления электрической активности. В работах нашей группы феномен холинергической невозбудимости был ранее показан в синоатриальном узле млекопитающих, а также в рабочем предсердном миокарде рыб и амфибий. Поскольку ионный механизм невозбудимости в пейсмекерном миокарде млекопитающих заключается в активации каналов калиевого АХ-зависимого тока (I_{KACH}), мы поставили задачу проверить возможность участия I_{KACH} в опосредовании холинергической невозбудимости в рабочем миокарде предсердия трески, для чего использовали блокатор калиевых АХ-зависимых каналов $BaCl_2$. Работа проводилась с использованием стандартного метода внутриклеточной

регистрации биоэлектрической активности с помощью стеклянных микроэлектродов. В нормальных условиях АХ (10 мкМ) вызывал снижение амплитуды ПД более, чем на 80% от исходной амплитуды, а также замедление ритма. Оказалось, что $BaCl_2$ в концентрации 100 мкМ на 92,6+/-11% уменьшает выраженность снижения амплитуды ПД в предсердном миокарде, происходящего при аппликации АХ, в препаратах, работающих в собственном ритме. При фиксированной частоте следования ПД в рабочем предсердном миокарде $BaCl_2$ также подавляет развитие снижения амплитуды ПД (на 85,2+/-7,9% от величины эффекта АХ в норме). Таким образом, холинергическая невозбудимость в рабочем миокарде предсердия трески развивается за счет активации $I_{K_{CaS}}$, приводящей к невозможности развития деполаризации мембраны даже при наличии тех или иных входящих токов.

Участие пептида Leu-Pro-Gly-Pro в процессах полимеризации и деполимеризации фибрина в плазменной среде

Рочев Дмитрий Леонидович

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, Gorrochev@mail.ru)

Известно, что пептиды глипролинового ряда обладают антикоагулянтно-фибринолитическими и антитромбоцитарными свойствами, а также ингибируют процесс полимеризации фибрина. Однако по данным литературы нет сведений о влиянии глипролина с добавленным с N-конца лейцином, обладающим гипогликемическим действием, на процессы полимеризации и деполимеризации фибрина. Поэтому целью данной работы является изучение участия Leu-Pro-Gly-Pro в этих процессах. Пептид Leu-Pro-Gly-Pro был синтезирован в институте молекулярной генетики РАН (Москва).

В настоящей работе применяли плазму крови крыс. Для исследования процессов полимеризации и деполимеризации фибрина использовали спектрофотометрический метод, основанный на турбидиметрическом анализе, предложенном Щербак и др., с нашей модификацией, заключающейся в ускорении процесса растворения фибринового сгустка. В условиях *in vitro* пептид в диапазоне концентраций от 10^{-9} до 10^{-3} М обладал фибриндеполимеризационным действием на нестабилизированные фибриновые пластины как в отсутствие, так и в присутствии плазмы крови. В плазменной среде спектрофотометрическим методом показано, что в присутствии пептида Leu-Pro-Gly-Pro в концентрации 1 мг/мл плазмы (опыт) ингибируется процесс полимеризации фибрина, вследствие чего уменьшается скорость образования сгустка, по сравнению с контролем (0,85%-ный раствор NaCl). Однако и в контроле, и в опыте фибриновый сгусток обладал сравнимой оптической плотностью. При исследовании деполимеризации фибрина в течение 10 минут в плазменной среде установлено отличие контрольных и опытных проб: в присутствии пептида Leu-Pro-Gly-Pro происходит снижение оптической плотности сгустка с течением времени, что не наблюдается в контроле.

Таким образом, исследуемый пептид обладает фибриндеполимеризационным действием на нестабилизированный фибрин как сам по себе, так и в присутствии плазмы. Также установлены ингибирующее участие Leu-Pro-Gly-Pro в процессе полимеризации фибрина и активация процесса деполимеризации фибрина в плазменной среде.

Изучение влияния тревожности студентов на показатели системы внешнего дыхания при экзаменационном стрессе

Сапорова Елена Владимировна

(Чувашский государственный педагогический университет им. И.Я.Яковлева, Факультет Естественных и Дизайна среды, Россия, Чебоксары)

Целью данной работы явилось влияние тревожности на параметры системы внешнего дыхания студентов при экзаменационном эмоциональном стрессе. В исследовании приняло участие 120 здоровых студенток в возрасте 17-24 года. Обследование проводилось в межсессионный период и непосредственно перед экзаменом. Изучение функциональных параметров системы внешнего дыхания осуществлялось посредством микропроцессорного спирографа СМП-21/01-«Р-Д». Психологическое тестирование включало в себя выявление

уровня ситуационной тревожности (СТ) посредством теста Спилбергера (Spielberger et al., 1995). Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием статистического пакета профессиональной статистики «Statistica 7.0 for Windows».

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что перед экзаменом происходит достоверное повышение значений ЧД ($Z=4,26$; $p=0,00002$), МОД ($Z=3,38$; $p=0,0007$), МОС25 ($Z=3,74$; $p=0,0002$), МОС50 ($Z=3,20$; $p=0,0001$) и МОС75 ($Z=2,83$; $p=0,005$), СОС25-75 ($Z=2,65$; $p=0,008$), ПОС ($Z=3,93$; $p=0,00009$), ОФВ1 ($Z=4,51$; $p=0,00001$), ОФВ1/ЖЕЛ ($Z=2,83$; $p=0,005$) и снижение значений временных показателей функционирования системы внешнего дыхания: ТПОС ($Z=2,77$; $p=0,006$) и ТФЖЕЛ ($Z=4,40$; $p=0,00001$). Это свидетельствует об увеличении степени бронхиальной проводимости при психоэмоциональном стрессе, что согласуется с литературными сведениями о том, что в легких активность симпатического отдела вегетативной нервной системы способствует расширению бронхов посредством влияния на гладкомышечные клетки кровеносных сосудов и на железы, выделяющие слизь (Chen, Miller, 2007).

Уровень ОФВ1 существенно варьирует в зависимости от степени ситуационной тревожности в условиях ожидания экзамена. Студенты с низким уровнем ситуационной тревожности по сравнению со студентами с высоким уровнем тревожности имели более низкие значения ОФВ1 (соответственно: $2,81\pm 0,25$ и $3,39\pm 0,11$; $F=5,87$; $p=0,02$), ОФВ1-ДОФВ1 (%) (соответственно: $90,62\pm 8,22$ и $107,80\pm 3,05$; $F=5,97$; $p=0,019$) и ТПОС (соответственно: $0,343\pm 0,101$ и $0,176\pm 0,030$; $F=4,56$; $p=0,039$). Перед экзаменом студенты с умеренной ситуационной тревожностью по сравнению со студентами с высоким уровнем тревожности имели более низкие значения показателя ПОС-ДПОС (%) (соответственно: $95,19\pm 2,88$ и $105,10\pm 3,95$; $F=4,04$; $p=0,047$). Эти результаты соответствуют данным о том, что уровень индивидуальной тревожности может оказывать существенное влияние на частоту дыхания и другие параметры системы внешнего дыхания (Nomma, Masaoka, 2008).

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что экзаменационный эмоциональный стресс сопровождается выраженными изменениями показателей внешнего дыхания. Изменения функциональных показателей внешнего дыхания могут служить индикаторами выраженности функциональных изменений в организме при стрессе реальной жизни.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (грант № 2.2.3.3/2028).

Исследовательская активность крыс после аппликации эндотоксина на слизистую оболочку носа

Стрижак Ирина Васильевна

(Институт физиологии НАН Беларуси, Беларусь, Минск, pochta_irishka@mail.ru)

Эндотоксины грамотрицательных бактерий являются одной из причин развития системного воспалительного процесса. При этом изменяется баланс теплопродукции и теплоотдачи, контроль ноцицепции, регуляции регионарной и системной гемодинамики, функциональное состояние иммунокомпетентных органов и организация поведения. Основные формы защитных поведенческих реакций организма, «fight / flight» – «борьба / избегание», изучены в экспериментах по моделированию лихорадки при внутривенном и внутрибрюшинном (в/б) введении липополисахарида кишечной палочки (ЛПС *E.coli*). Однако такой путь поступления эндотоксина во внутреннюю среду организма нельзя признать естественным. Что произойдет с исследовательской активностью крыс в экспериментах с моделированием естественного контакта микробов и эндотоксинов со слизистой оболочкой полости носа? Поведенческие реакции оценивали в опытах на белых крысах-самцах ($n=24$) массой тела $0,25-0,30$ кг в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) в условиях свободного поведения – 1-ая группа ($n=7$), через 1 час после интраназальной аппликации 5 мкг ЛПС в 5 мкл раствора (1 мг/мл) – 2-ая группа ($n=9$). Еще в одной группе крыс в/б вводили 100 мкг/мл/кг ЛПС *E.coli* – 3-ая группа ($n=8$). Статистическую обработку результатов проводили методом парных сравнений с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни (достоверными считались данные при $p \leq 0,05$). Результаты

представлены в виде среднего арифметического и ошибки среднего. Количество входов в открытые рукава лабиринта составило $2,71 \pm 0,75$; $9,22 \pm 2,42$; $7,88 \pm 1,71$ для 1, 2, 3 групп крыс соответственно. Количество входов в центральную зону и дистанция, пройденная в данном секторе ПКЛ для крыс 1-ой группы – $7,57 \pm 1,86$ и $0,58 \pm 0,13$; $17,33 \pm 1,83$ и $1,09 \pm 0,07$ – 2-ой группы; $15,50 \pm 2,10$ и $1,2 \pm 0,19$ – 3-ей группы. Таким образом, как после интраназальной аппликации эндотоксина, так и при моделировании системного воспалительного процесса путем в/б введения ЛПС *E.coli* наблюдается активизация исследовательского поведения крыс. Следовательно, при моделировании в эксперименте ситуации естественной для контакта слизистой оболочки полости носа с микробами и эндотоксинами начинает проявляться поведенческая активность животных, типичная для развития начальной фазы системного воспалительного процесса.

Адаптационный ответ организма животных при введении различных форм пчелиного яда

Таламанова Мария Николаевна

(Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского – Национальный исследовательский университет, Биологический факультет, , Россия, Нижний Новгород, talamanovam@gmail.com)

Пчелиный яд (ПЯ) - сложная, многокомпонентная смесь биологически активных веществ, которые могут одновременно воздействовать на многие регуляторные и исполнительные системы организма. Белково-пептидная природа яда ограничивает возможность его перорального применения в клинической практике вследствие протеолитического разрушения его компонентов пищеварительными ферментами. Цель работы - возможность оценки биологического ответа организма при пероральном введении различных форм нетоксичных доз ПЯ ($0,5 \text{ мг/кг}$) и их способность формировать адаптационный ответ.

Исследования проводились на белых нелинейных крысах – самцах. Препараты ПЯ вводили перорально в течение 7 дней объемом 1 мл на животное. 1 группе ПЯ вводили в составе наночастиц золота экранированных хитозаном, 2 – в виде водного раствора. Контрольным животным вводили соответственно наночастицы золота экранированных хитозаном и физраствор. За условную норму принимались показатели интактных животных. На 1 и 7 сутки после курсового введения был проведен анализ лейкоцитарной формулы (ЛФ): количество сегментоядерных нейтрофилов (СЯН) и лимфоцитов (Лимф).

На 1 сутки после курсового перорального введения нанокмпозитов с ПЯ в крови животных установлено статистически значимое увеличение количества Лимф и снижение СЯН по сравнению с интактной группой. Аналогичные данные были получены и на 7 сутки, что указывает на развитие у животных неспецифической адаптационной реакции устойчивой активации. В группе животных получавших водный раствор ПЯ на 1 сутки наблюдалось статистически значимое увеличение количества СЯН и снижение количества Лимф относительно интактных, свидетельствующее о возникновении типичной стресс-реакции, сохранившейся в течение следующих 7 суток, что возможно связано с повреждающим действием водного раствора ПЯ на слизистую кишечника. Показатели ЛФ животных обеих контрольных групп не изменились относительно интактных.

Проведенные исследования с большей долей вероятности позволяют полагать, что курсовое пероральное введенный ПЯ в составе наночастиц золота экранированных хитозаном сохраняет свою биологическую активность, проникает через эпителиальный барьер кишечника в кровь и не оказывает выраженного токсического действия на организм животных. В конечном итоге это приводит к формированию не повреждающей, в отличие от стресса, адаптационной реакции устойчивой активации, характеризующейся повышенной резистентностью организма к действию повреждающих факторов различной природы.

**Влияние перорального введения дельта-эндотоксина
Bacillus thuringiensis на продолжительность жизни и биохимические показатели
сыворотки крови белых крыс**

Терёхина Наталья Викторовна, Каменек Л.К., Масалина И.С.

(Ульяновский государственный университет, Россия, Ульяновск, kelasueva@mail.ru)

В связи с массовым применением препаратов и трансгенных растений со встроенным геном *B. thuringiensis* наиболее остро встал вопрос о безопасности данного белка для млекопитающих. Материалом исследования послужили 40 самок беспородных белых крыс, которых в возрасте 240 суток разделили на контрольную и три (I, II и III) опытные группы. Животным I, II и III опытных групп ежедневно в течение 3 месяцев перорально вводили дельта-эндотоксин *Bacillus thuringiensis* в концентрациях 4 мг/кг, 8 мг/кг и 16 мг/кг, соответственно.

Установлено, что продолжительность жизни животных III опытной группы на 4% превышает ($p < 0,05$) таковую животных контрольной и II опытной групп. Увеличение средней массы животных I опытной группы составляет 16,42%, II опытной группы - 18,51%, III опытной группы - 19,79%, тогда как этот показатель у животных контрольной группы равен лишь 8,82%.

Активность ЛДГ в сыворотке крови у животных I и II опытных групп составляет $2887,5 \pm 197,72$ Е/л и $3550 \pm 158,11$ Е/л, соответственно ($p < 0,05$), тогда как у животных контрольной группы - $4740 \pm 304,76$ Е/л, а у животных III опытной группы - $4400 \pm 228,04$ Е/л. Снижение активности данного фермента у животных I и II опытных групп, вероятно, обусловлено усилением аэробности условий, которое было вызвано действием дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis*. При этом активность АСТ в сыворотке крови у животных всех опытных групп значительно ниже ($p < 0,05$), чем у животных контрольной группы.

Наблюдаемое снижение активности ферментов в сыворотке крови у животных всех опытных групп под действием дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* может свидетельствовать, на наш взгляд, об уменьшении степени разрушения клеток с возрастом, однако, это предположение требует дальнейшего исследования.

Работа поддерживается грантом ФЦП, гос. контракт № 02.740.11.5230

**TNF- α вызывает механоиндуцированную аритмию предсердий крыс, а растяжение
ткани ее устраняет**

Тянь Бо, Митрохин В.М.

*(Российский государственный медицинский Университет, Россия, Москва,
tianbo168@mail.ru)*

В последние годы показано, что работа механоуправляемых каналов (Mechanically Gated Channels: MGCs) кардиомиоцитов эффективно модулируется NO (Kazanski et al., 2011). Поскольку ряд цитокинов, и прежде всего, TNF- α , реализуют свое влияние в том числе через систему NO, было предположено, что TNF- α будет приводить к развитию абнормальностей потенциалов действия, и эти абнормальности (Kamkin et al., 2000) будут связаны с работой MGCs, как это было показано ранее (Kamkin et al., 2000). Для доказательства этого предположения была использована стандартная микроэлектродная техника в сочетании с техникой растяжения препарата правого предсердия крыс. Ткань перфузировали стандартным солевым раствором, содержащим TNF- α в концентрации 50 нг/мл. Перфузия ткани раствором TNF- α приводила к возникновению абнормальности в развитии биоэлектрической активности, преимущественно в виде удлинения APD90 и появления горбообразной деполяризации на уровне APD90. При достижении E_c hump-like depolarization переходила единичные экстра-потенциалы действия, а далее развивалась устойчивая аритмия. Поскольку блокатор MGCs Gd^{3+} в концентрации 40 мкмоль/л устранял не только горбообразную деполяризацию, но и аритмию, было предположено, что вызванные TNF- α абнормальности связаны с работой MGCs, которые активировались посредством увеличения внутриклеточной концентрации NO, вызванной применением TNF- α . Для проверки роли NO в регуляции работы MGCs нами методом patch-clamp в конфигурации whole-cell в сочетании с методом растяжения изолированных клеток (Kamkin et al., 2000) было показано, что донор

NO SNAP открывает MGCs у растянутой клетки, а у растянутаой клетки их закрывает, то есть работа MGCs определяется концентрацией NO. Известно, что растяжение клеток или тканей стимулирует работу NO синтазы, что увеличивает концентрацию NO в клетках (Kazanski et al., 2011). Кроме того, в контрольных условиях растяжение ткани приводит к появлению горбообразной деполяризации (Kamkin et al., 2000). Поэтому мы провели серию экспериментов, в которых растягивали ткань предсердий на фоне индуцированных TNF- α горбообразных деполяризацій или аритмий. Растяжение ткани полностью устраняет механоиндуцированные электрические аномальности, возникающие у кардиомиоцитов под действием TNF- α . Таким образом, TNF- α вызывает электрические аномальности кардиомиоцитов, а растяжение ткани их устраняет. Этот эффект, вероятно, реализуется через систему сигнальных путей NO. Полученные данные важны для понимания механизмов аритмий с целью создания системы их ранней диагностики.

Авторы благодарны научному руководителю, доктору медицинских наук, профессору Камкину А.Г. за идею работы, возможность ее выполнения и обсуждение на всех этапах.

Влияние вазопрессина АВП(6-9) на поведение белых крыс

Угрина Александра Петровна

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва)

Вазопрессин - гипофизарный нейрогогормон, который обладает широким спектром биологических действий. Было обнаружено, что в результате протеолитического расщепления вазопрессина ферментами крови образуются метаболические фрагменты, некоторые из которых действуют на поведенческую активность. Гипотетическое моделирование процессов деградации молекулы позволило выявить 41 способ возможного распада с образованием 29 метаболических фрагментов.

Согласно литературным данным, функционально-важным участком в молекуле является его С-концевая последовательность, а наиболее вероятными метаболическими продуктами с С-концевым участком AVP являются фрагменты AVP4-9, AVP5-9, AVP6-9 и AVP6-8 (вероятности образования 0,06, 0,05, 0,05 и 0,01 соответственно).

К настоящему моменту были проведены исследования фрагментов AVP4-9 и AVP5-9, которые подтвердили предположение о влиянии данных фрагментов на поведенческие реакции. В то же время, данных о роли фрагмента AVP6-9 в поведении млекопитающих в открытых литературных источниках обнаружено не было.

Таким образом, нашей задачей являлась детекция влияния метаболического фрагмента AVP6-9 на поведение крыс. Данный фрагмент используется впервые в исследованиях поведения животных.

В данной работе было исследовано влияния острого введения фрагмента АВП(6-9) на ориентировочно-исследовательское поведение, уровень тревожности и степень депрессивности белых крыс.

Работа проводилась на половозрелых самцах нелинейных белых крыс массой 220-250 г. Препарат вводили интраназально в объеме 1 мкл/10 г массы тела за 5 и 30 минут до тестирования в дозах 10,0 мкг/кг, 1,0 мкг/кг, 0,1 мкг/кг и 0,01 мкг/кг. Контрольным животным вводили эквивалентный объем растворителя (дистиллированной воды).

Ориентировочно-исследовательское поведение (ОИР) животных исследовали в тестах «открытое поле» («бесстрессорная» и «стрессогенная» модификация) и «норковая камера», уровень тревожности - в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» и «светлая-темная камера». При интраназальном введении в дозах 10,0 мкг/кг; 1,0 мкг/кг; 0,1 мкг/кг и 0,01 мкг/кг за 5 минут до начала эксперимента значительных изменений не наблюдается, животные не обучаются. При введении тех же доз за 30 минут до начала эксперимента наблюдается увеличение ОИР на фоне повышенной тревожности.

Данные результаты пока не позволяют сделать однозначных выводы из-за небольшого количества животных в каждой дозе. Требуется дополнительные эксперименты и, возможно, применение других экспериментальных методов.

Роль внеклеточного кальция в регуляции люминесценции элитр полихеты

Harmothoe imbricate

Фидченко Юрий Михайлович, Захаров А. М., Кассарина Н.В.

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, fidchenko@inbox.ru)

Многочетинковый червь *Harmothoe imbricate*, встречающийся в Белом Море, обладает специфическими органами, способными к биолюминесценции. Его чешуйки, располагающиеся на спинной поверхности, начинают светиться при механическом раздражении или их сбрасывании. Чешуйка сложно устроена – имеет нервную и фотогенную ткань. Люминесцирующий белок – полиноидин – располагается в клетках фотогенной ткани в специальных органеллах – фотосомах, которые связаны с эндоплазматическим ретикуломом и плазматической мембраной фоточитов. Установлено, что для активации свечения полиноидина необходим кальций. Однако, остается неизвестным, поступает ли кальций, активирующий фотосома из эндоплазматического ретикулома или из внеклеточной среды. В данной работе была предпринята попытка выяснения источника кальция, активирующего биолюминесценцию у *Harmothoe imbricate*.

Работа выполнена в летний период на Беломорской Биологической Станции им. Перцова (МГУ). Животные были отловлены в заливе в районе биостанции на глубине 10-15 м. Интенсивность люминесценции отделенных чешуек измеряли с помощью люминометра Hidex 1010. Определяли влияние на максимальную интенсивность люминесценции рутениума красного (РК – 1 мМ), кофеина (1 мМ), искусственной морской воды (ИМВ), содержащей нормальную, двухкратную и четырехкратную концентрацию кальция.

Показано, что РК – блокатор рианодиновых рецепторов, отвечающих за выделение кальция из эндоплазматического ретикулома, снижал интенсивность люминесценции на 5-25% в разных опытах.

Кофеин оказывает активирующее действие на рианодиновые рецепторы и стимулирует выброс кальция в цитоплазму у позвоночных. Кофеин в концентрации 1 мМ практически не оказывал влияния на интенсивность люминесценции.

В то же время в наших экспериментах наблюдалась выраженная зависимость интенсивности люминесценции от концентрации кальция в ИМВ. При двукратном (с 10 до 20 мМ) увеличении концентрации кальция максимальный уровень люминесценции возрастал в четыре раза. При четырехкратном увеличении концентрации кальция в ИМВ (40 мМ) люминесценция возрастала в 20 раз. Ранее показано, что блокатор кальциевых каналов нифедипин снижает интенсивность люминесценции у *Harmothoe imbricate*, вероятно, предотвращая поступление внеклеточного кальция в цитоплазму. Также показано, что эндоплазматический ретикулом фотогенных клеток многочетинкового червя развит слабо.

На основе полученных данных и данных литературы можно предположить, что в большей степени активация люминесценции в фотогенных клетках чешуек *Harmothoe imbricate* обусловлена внеклеточным кальцием, поступающим в цитоплазму через мембранные ионные каналы, но не кальцием эндоплазматического ретикулома.

Холинергическая регуляция кальциевого транзита в нервно-мышечном соединении лягушки

Хазиев Эдуард Фаритович¹, Фатихов Н.Ф.²

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Физический факультет,

²Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Россия, Казань, eduard.khaziev@gmail.com)

Медиатором, отвечающим за передачу сигнала в нервно-мышечном соединении холоднокровных, является ацетилхолин. На двигательных нервных окончаниях лягушки мишенями для ацетилхолина и его негидролизуемого аналога карбахолина являются пресинаптические холинорецепторы как никотинового, так и мускаринового типов, которые включены в систему «обратной связи» регуляции эффективности синаптической передачи. Активация мускариновых рецепторов приводит к изменению количества освобождаемых квантов (квантовый состав), а никотиновых – к изменению как квантового состава, так и

временного хода процесса выделения квантов. Поскольку квантовая секреция запускается входящими ионами кальция, и ее количественные и временные параметры проявляют выраженную зависимость от величины кальциевого транзиента, возникает вопрос о кальций-опосредованном эффекте холинергических агентов на процесс квантовой секреции.

В данном исследовании изучали влияние карбахолина на относительное изменение уровня Ca^{2+} (кальциевый транзиент) в ответ на нервный импульс в нервной терминали изолированного нервно-мышечного препарата *m.cutaneus rectoris* озёрной лягушки. Оценку изменения уровня кальция производили при помощи флуоресцентного кальциевого красителя Oregon Green Bapta1 pentopotassium salt. Загрузку красителя выполняли через культовую нерв и осуществляли оптическую регистрацию и оценку амплитуды кальциевого транзиента с помощью фотометрической установки на основе фотодиода.

Проведённые эксперименты показали, что в нормальных физиологических условиях, при блокаде мышечных сокращений с помощью поперечного рассеяния мышечных волокон, действия карбахолина в концентрации 1×10^{-5} м на Ca^{2+} транзиент не наблюдалось. При устранении мышечных сокращений d-тубокурарином в концентрации 0.5×10^{-5} м, в присутствии карбахолина наблюдалось достоверное уменьшение Ca^{2+} транзиента на 20%.

Поскольку d-тубокуралин блокирует никотиновые рецепторы как концевой пластинки мышечного волокна, так и рецепторы на нервных окончаниях, проведенные эксперименты показывают, что в условиях блокады пресинаптических никотиновых рецепторов, карбахолин оказывает угнетающее действие на кальциевый транзиент, что свидетельствует о возможной реализации его модулирующего эффекта посредством активации пресинаптических мускариновых рецепторов.

Работа поддержана грантами РФФИ, Президента РФ «Ведущая Научная Школа».

Особенности квантовой секреции в синапсах животных на разных стадиях онтогенеза

Хузахметова Венера Фаритовна

(Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Россия, Казань, venerik87@mail.ru)

В ходе развития организма, особенно в ранний постнатальный период, синаптический аппарат претерпевает значительные морфологические и функциональные изменения. В синапсах новорожденных животных, по сравнению со взрослыми, существенно различаются размер синапсов, скорость проведения импульса по нерву, количество освобождаемых квантов медиатора, активность потенциал-зависимых кальциевых каналов, опосредующих экзоцитоз. Освобождение квантов медиатора происходит с различной степенью синхронности в зависимости от состояния синаптического контакта, и поэтому наряду с квантовым составом постсинаптических ответов, кинетика выделения квантов является важной характеристикой состояния секреторного аппарата. В числе факторов, обуславливающих несинхронность выделения квантов, могут быть ионы кальция, освобождаемые из внутриклеточных кальциевых депо в ходе ритмической активности синапса. В связи с этим, задачей данного исследования было изучение работы синаптического аппарата у животных на разных стадиях онтогенеза при различных режимах стимуляции, а также влияния блокады риадиноновых рецепторов (РiP) с помощью риадиноина (5 мкМ) на уровень синхронного и асинхронного освобождения квантов медиатора в нервно-мышечном синапсе 6-, 10-дневных и взрослых крыс. Методом микроэлектродной экстраклеточной регистрации измеряли истинную синаптическую задержку одноквантовых токов концевой пластинки в условиях «магниевого» препарата (концентрация ионов кальция 0.4 ммоль/л и магния 5 ммоль/л) во временном интервале 50 мс при частоте стимуляции двигательного нерва от 0.5 до 15 Гц.

Проведенные исследования показали, что в синапсах новорожденных животных интенсивность спонтанной и вызванной квантовой секреции, а также скорость проведения возбуждения по аксону была более чем на 50% ниже, чем у взрослых. В синапсах 6-ти и 10-дневных крысят наблюдались более длительная минимальная синаптическая задержка и высокая степень несинхронности выделения квантов. При повышении частоты стимуляции

двигательного нерва явление облегчения было более выражено для асинхронной фазы секреции в синапсах новорожденных, что может быть связано с недостаточной функциональной активностью внутриклеточных кальциевых депо. Уменьшение несинхронности выделения квантов под действием блокатора рианодиновых рецепторов в синапсах новорожденных свидетельствует об участии этих рецепторов и внутриклеточных кальциевых буферных систем в модуляции временных параметров выделения квантов ацетилхолина.

Работа поддержана грантами РФФИ и грантом Президента РФ «Ведущая научная школа».

Влияние нанокристаллического кремния на активность аминотрансфераз в сыворотке крови у крыс.

Чиева Мадина Олеговна, Цирихов О.Т., Музаева Р.В.

(Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова,

Биолого-технологический факультет, Россия, Владикавказ, madi-iron72@mail.ru)

С развитием нанотехнологий связывают достижения науки и техники в самых разных областях человеческой деятельности. Это означает расширяющийся контакт человека и экосистем со всеми новыми наночастицами, а также целенаправленное использование наночастиц разной природы в области медицины, что определяет их адресное и систематическое введение в организм. Около 70 элементов не усваиваются, если в организме не хватает кремния. Кремний способствует биосинтезу коллагена, участвует в метаболизме фосфора и в липидном обмене, а также в поддержании своего равновесия с кальцием, которое тесно связано с процессами старения организма.

Цель: оценить действия nc-Si на активность аминотрансфераз крови в экспериментах на крысах линии Wister.

Крысам внутрижелудочно вводили nc-Si, полученные на физическом факультете Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова в лаборатории Тимошенко В.Ю. Активность аминотрансфераз определяли по методу Райтмана, Френкеля, с помощью набора La Chema (Чехия) на биохимическом анализаторе Chem Well. Сравнивали показатели активности аминотрансфераз в крови интактных животных и зондированных nc-Si.

Результаты исследований показали, что nc-Si не влияет на активность аминотрансфераз. Активность АлТ и АсТ в плазме крови у крыс, получавших нанокристаллический кремний в дозе 0,1г/л, существенно не отличалась от показателей контрольных животных. Следовательно, nc-Si в дозе 0,1г/л не обладает гепатотоксическим действием.

Анализ здоровья школьников на современном этапе образования

Ширей Вероника Олеговна, Казакова Т. И.,

Лысенко Т.Г.

(Учреждение образования «Белорусский государственный педагогический университет им. М. Танка», Беларусь, Минск, kovalyovuy@mail.ru)

Современная жизнь и высокий темп развития общества предъявляют повышенные требования к здоровью человека. Здоровье школьников зависит от многих факторов, среди которых значительную роль играют внутришкольные: надлежщие санитарно-гигиенические условия, материально-техническая база, внимание к физической культуре, организация питания. Изменения системы школьного образования увеличивает негативное влияние внутришкольных факторов на состояние здоровья учащихся. Введение в систему образования новых технологий и форм обучения, интенсификация учебного процесса, повышенные требования к объему и качеству знаний приводят к снижению работоспособности, ухудшению функционального состояния организма, дисинхрозу.

Нами были проанализированы медицинские карты 662 школьников 6-9 классов (СШ № 30, 36, гимназия 29 г. Минска): из общего числа школьников к I группе здоровья относятся 15 человек (2,3%); среди II и III группы здоровья значительные изменения в процентном соотношении наблюдаются в 9 классе – происходит уменьшение II группы здоровья с 65,6%

(8 кл.) до 57,3% (9 кл.) и увеличение III группы здоровья с 30,3% (8 кл.) до 37,4% (9 кл.). Мальчиков относящихся ко II группе здоровья во всех классах больше в сравнении с девочками. К 9 классу процент девочек относящихся к III группе здоровья увеличивается – с 36,4% (6 кл.) до 46,8% (9 кл.) за исключением 7 класса – здесь происходит увеличение в сравнении с 6 классом II группы здоровья (с 61,4% до 63,3%) и уменьшение процента III группы здоровья (с 36,4% до 34,9%). Среди мальчиков 6-8 классов, относящихся ко II группе здоровья значительного изменения в процентном отношении нет, а в 9 классе происходит снижение с 69,4% (8 кл.) до 66,7% (9 кл.). Процент мальчиков, относящихся к III группе здоровья увеличивается на 1% в 7 классе в сравнении с 6 классом, затем в 8 классе происходит снижение с 29,3% до 24,2%, и в 9 классе снова происходит увеличение до 29%.

С точки зрения сохранения здоровья, необходимо активное воспитание человека с раннего детства в гигиеническом режиме, который предупреждает возникновение и действие на организм факторов риска и является наиболее перспективным. За время нахождения в школе у детей должны быть выработаны не только гигиенические навыки, но и осознанное отношение к своему здоровью. В свою очередь сама система образования должна базироваться на принципе здоровьесберегающей педагогики. Внедрение в учебный процесс здоровьесберегающих технологий позволит добиться положительных изменений в состоянии здоровья школьников.

Влияние водного экстракта пармелии на гомеостаз слизистой оболочки желудка у белых крыс

Эльбикова Айса Александровна

(Калмыцкий государственный университет, Россия, Элиста, edeeva_saglara@mail.ru)

Пармелия блуждающая (*Parmelia vagans*), широко распространенный в засушливых регионах юга России, Калмыкии и Казахстане лишайник, который входит в арсенал народной медицины. Тем не менее, к настоящему времени, в литературе практически отсутствуют экспериментальные данные о протекторных и терапевтических свойствах пармелии.

Целью работы было исследовать возможные протекторные противоязвенные свойства водного раствора экстракта пармелии на этаноловой и стрессорной моделях язвообразования. В экспериментах были использованы самцы белых беспородных крыс массой 200-250 г. Вызов этаноловой и стрессорной модели проводили с использованием стандартных методик. Раствор пармелии животным опытной группы вводили в объеме 1мл/200 г. за 1 час до начала действия ulcerогенного фактора (этанола и стресса). Животные контрольной группы получали соответствующие объемы физиологического раствора. Площадь повреждений подчитывали с помощью бинокулярной лупы с окулярмикронетром. Статистическую обработку результатов проводили при помощи пакета прикладных программ STATISTICA 6.0.

Внутрижелудочное введение водного раствора пармелии повышало устойчивость слизистой оболочки желудка к действию этанола (противоязвенный эффект составил 39,6%, $P < 0,05$) и стресса (противоязвенный эффект составил 90%, $P < 0,001$). Известно, что основным патогенетическим фактором на этаноловой и стрессорной модели язвообразования является нарушение адекватного кровотока в слизистой оболочке желудка, связанное с вазоконстрикторным влиянием этанола на кровеносные сосуды с одновременным нарушением их проницаемости, гиперактивацией тучных клеток, сопровождающейся выбросом гистамина и других провоспалительных и вазоактивных факторов, уменьшением выработки простагландинов и др. Мы не исключаем и тот факт, что высокая противоязвенная активность минеральной воды пармелии может быть связана с воздействием и на эти механизмы язвообразования.

Выражаю благодарность научному руководителю, профессору Калмыцкого госуниверситета, Абушиновой Надежде Норминовне за помощь в подготовке и написании тезисов.

**Исследование процесса эндоцитоза синаптических везикул в первом окончании
мышы при экспериментальном сахарном диабете.**

Яковлева Ольга Владиславовна, Дмитриева Л.Е.

(Казанский федеральный университет, Россия, Казань, a-olay@yandex.ru)

Сахарный диабет (СД) - это хроническое заболевание эндокринной системы человека, характеризующееся длительным повышением концентрации глюкозы в крови и сопутствующими изменениями процесса обмена веществ. Диабетическая невропатия - это клинические или субклинические признаки поражения периферической нервной системы у пациентов с сахарным диабетом. Диабетическая невропатия является основной причиной инвалидизации пациентов с СД. Целью данной работы являлось исследование процесса эндоцитоза синаптических везикул (СВ) в первом окончании мышы при экспериментальном СД.

Эксперименты проводили на нервно-мышечных препаратах диафрагмальной мышцы мышы с использованием флуоресцентных методов исследования. Использовали флуоресцентный краситель – FM 1-43 (4 мкМ), который связывается с пресинаптической мембраной и во время эндоцитоза оказывается внутри вновь образующихся СВ, при этом появляется характерное свечение нервного окончания. Двигательный нерв стимулировали в течение 1 минуты с частотой 50 Гц. FM1-43 присутствовал в растворе: 1) 1 минуту во время стимуляции, 2) 7 минут после ее окончания, 3) 1 минуту во время стимуляции и 7 минут после. В норме в первом случае свечение терминалей составило 85.473.5 о.е. (n=143), во втором случае - 56.071.6 о.е. (n=119), в третьем - 87.173.7 о.е. (n=121).

Для выявления влияния СД на процессы эндоцитоза СВ, мышам после суточного голодания внутрибрюшинно вводили аллоксан (10мг/кг). Через 10-20 суток наблюдалось значительное увеличение уровня глюкозы в крови. Забор осуществляли из хвостовой вены, изменения производили глюкометром $\text{\#Accu-Chek Active\#}$. На 45 сутки животных выводили из опыта.

У контрольной группы (введение физиологического раствора) интенсивность свечения терминалей не отличалась от нормы. У животных с экспериментальным СД свечение терминалей в первом случае составило 104.974.6 о.е., во втором не отличалась от нормы, в третьем составило 95.373.2.

Можно предположить, что в условиях экспериментального СД наблюдается усиление быстрого эндоцитоза СВ в первом окончании мышы.

Поддержано грантом Carl Zeiss.

ПОДСЕКЦИЯ «ЦИТОЛОГИЯ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Морфометрические изменения слизистой оболочки толстой кишки и микробиоценоза мышей Balb/c при холодовой нагрузке

Абдулаева Сабина Олеговна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, sabina347@mail.ru)

Изучение влияния стрессорных воздействий на состояние желудочно-кишечного тракта как барьерного органа и изменение микрофлоры актуально, т.к. в настоящее время увеличивается частота инфекционных и хронических воспалительных заболеваний желудка, тонкой и толстой кишки. Цель работы - изучить морфологические изменения и состав просветной микрофлоры толстой кишки самцов мышей Balb/c (n=60) при ежедневном 2-х минутном холодовом воздействии (вода со льдом, t° +4°C). Падение температуры в прямой кишке составило 4,8±0,3°C (соответствует глубокому охлаждению по классификации Козыревой Т.В). Исследование проводилось на 9-е, 21-е и 42-е сут воздействия.

Проводили морфометрическое исследование структурных компонентов ободочной кишки, определяли объемную долю бокаловидных клеток и клеточных элементов в собственной пластинке слизистой оболочки, оценивали клеточный состав инфильтрата. Состояние микрофлоры кишечника оценивали по уровню лактозоположительных и лактозоотрицательных энтеробактерий, энтерококков (*E.faecalis* et *fecium*), лактобактерий. Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента. Статистическую обработку данных по показателям микрофлоры проводили непараметрическими методами Kruskal-Wallis One Way Analysis с использованием программы SigmaStat 3,5.

По данным микробиологического исследования на 9-е сут холодового воздействия в составе просветной микрофлоры толстой кишки достоверно увеличивалось число энтерококков *E.faecalis* и *E.fecium*. С увеличением сроков эксперимента их число продолжало нарастать, лишь на 42-е сут отмечалось снижение их уровня, который, тем не менее, оставался выше, чем в контроле. На 42-е сут резко увеличено количество Lac+ *E.coli*, снижено Lac-. Количество лактобактерий увеличивалось на 9-е и 21-е сут, максимально на 42-е сут. По данным морфометрического исследования на 9-е сут достоверно снижалась объемная доля эпителия, а на 42-е сут показатель был выше контроля. Число бокаловидных клеток достоверно снижалось на 9-е, 21-е и 42-е сут. На 9-е сут холодового воздействия в эпителиальном слое достоверно увеличивалась объемная доля бокаловидных клеток. На 21-е сут отмечается тенденция к нормализации показателя, а на 42-е сут он не отличался от такового в контроле.

Выявленные у мышей Balb/c изменения количественного состава микрофлоры толстой кишки, сочетающиеся с гиперплазией и гипертрофией бокаловидных клеток слизистой оболочки, являются адаптивными и соответствуют таковым при синдроме раздраженной кишки у человека.

Сокультивирование гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови с мультипотентными мезенхимными стромальными клетками из липоаспирата человека

Бобылёва Полина Ивановна, Горностаева А. Н.

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, ГНЦ РФ ИМБП РАН, Россия, Москва, blastoblast@gmail.com)

Повышение эффективности процедуры трансплантации костного мозга за счёт увеличения количества вводимых гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) является актуальной задачей современной регенеративной медицины. В связи с этим представляет интерес создание модели наращивания ГСК ex vivo с использованием в качестве фидеров мезенхимных стромальных клеток (МСК), поскольку, как компоненты кроветворной костномозговой ниши, они активно участвуют в жизнедеятельности ГСК in vivo. МСК из жировой ткани

очень близки по характеристикам к костномозговым, а также более доступны, поэтому в данной модели могут служить им заменой.

Проводилось сокультивирование ГСК из пуповинной крови человека (пкГСК) с мультипотентными мезенхимными стромальными клетками из жировой ткани человека (жтММСК) и из костного мозга (кМММСК). Иммуногистохимический анализ культуры пкГСК и жтММСК после 7 и 14 дней сокультивирования выявил наличие клеток с маркерами гемопоэтических стволовых клеток (CD34 и CD133). Была оценена способность ГСК образовывать гемопоэтические колонии в полужидкой среде MethoCult (StemCells, США). ГСК, сокультивировавшиеся с жтММСК, образовывали несколько меньше гемопоэтических колоний, чем сокультивировавшиеся с кМММСК и не сокультивировавшиеся с ММСК, но соотношение разных типов колоний во всех трёх случаях было сходным. Цитофлюориметрический анализ по протоколу "Immuno 7" показал, что после 72ч сокультивирования с жтММСК в пуповинной крови снизилось содержание лимфоцитов за счёт уменьшения количества В-клеток (CD19⁺), NK-клеток (CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺); произошло снижение количества T-NK (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) и активированных Т-лимфоцитов (CD3⁺CD25⁺ и CD3⁺CD69⁺).

Таким образом, жтММСК могут поддерживать пкГСК в недифференцированном состоянии и способность последних к образованию колоний, не влияя при этом на соотношения гемопоэтических клеток, образующих различные типы КОЕ. Сокультивирование пуповинной крови с МСК не приводит к активации лимфоцитов, что позволяет проводить сокультивирование, не разделяя пуповинную кровь на различные клеточные фракции в целях избежания активации лимфоцитов и иммунной реакции.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 10-04-01158 и программы ОБН РАН.

Митохондрии кардиомиоцитов правого предсердия сердца крыс при моделировании эффектов космического полёта

Вареник Евгения Николаевна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, evdiva@rambler.ru)

Одним из лимитирующих факторов, влияющим на продолжительность космических полётов, служит адаптация организма к невесомости, поэтому перспективным является изучение мер, направленных на предотвращение такой адаптации. Один из возможных методов - применение кратковременных перегрузок - опробован в космическом полёте ("Космос-936") и показана его перспективность. Зачастую в работах внимание уделено рабочим кардиомиоцитам (КМЦ) левого желудочка (лж), однако не меньший интерес представляют и секреторные КМЦ, преимущественно расположенные в правом предсердии (пп), детальный электронномикроскопический анализ которых не проводился ранее.

В работе описан митохондрии КМЦ пп самцов крыс (Вистар) при моделировании эффектов космического полёта. Эффекты невесомости моделировали антиортостатическим вывешиванием, гипергравитацию - центрифугированием (2G). Изучены 5 групп крыс: «контроль» (1) - интактные; 2 - крыс на 1 ч/день в течение 19 сут поместили в пеналы, но не подвергали воздействиям; 3 - круглосуточное антиортостатическое вывешивание в течение 24 сут; 4 - вращение крыс в пеналах на центрифуге по 1 ч в течение 19 сут; 5 - вывешивание, как группы 3, при этом на 1 ч/день (начиная с 4-суток) крыс снимали и вращали на центрифуге. Постановка эксперимента - на базе ГНЦ РФ - ИМБП под руководством ведущего научного сотрудника, к.м.н. Краснова И.Б. Анализ ультраструктуры КМЦ пп проводился методом ТЭМ. Определяли количество межмитохондриальных контактов (ММК) - динамичный и универсальный показатель состояния митохондрии КМЦ. Достоверность отличий оценивалась в программе STATISTICA непараметрическим U-тестом Манна-Уитни.

Ультраструктура отдельных митохондрий (МТХ) изменяется в группе 3 и 5: кристы имеют нехарактерное для контроля строение — их ход извилистый, расположение менее плотное. В группах 2 и 4 структура МТХ сходна с контролем. По данным морфометрического анализа в межфибриллярных зонах КМЦ уменьшается количество ММК

в группах 2 и 5 и не меняется в группах 3, 4. В околоядерных зонах КМЦ группы 3 возрастает количество ММК относительно контроля и не изменяется в группах 2, 4 и 5. В субарколеммальных околососудистых зонах количество ММК уменьшается только в группе 5. Т.о. реакция на совместное действие моделирования эффектов невесомости и гипергравитации по сравнению с отдельным действием каждого из факторов на митохондрию КМЦ по качественно иная, что согласуются с результатами, полученными на лж сердца крыс. Однако, в случае по требуются дополнительные исследования для понимания, являются ли эти изменения КМЦ отрицательными, положительными или нейтральными.

Сравнительная морфофункциональная характеристика эпителия внутрилёгочных бронхов крыс при действии эмоционально-болевого стресса (ЭБС) различной интенсивности.

Вахитов Эдуард Маратович

(Оренбургская государственная медицинская академия, Россия, Оренбург, tripura@mail.ru)

В норме стресс направлен на поддержание гомеостаза. При его чрезмерном воздействии развивается нарушение структурно-функциональной целостности организма. В настоящей работе исследовано структурно-функциональное состояние эпителиальных барьеров воздухоносной системы лёгких крыс при стрессировании различной интенсивности. В опытах использовали белых беспородных крыс-самцов массой 210 – 240 г., которых подвергали воздействию однократного ЭБС по O.Disederato (однократное 5-тичасовое стрессирование) и длительного ЭБС (ежедневное 5-тичасовое стрессирование в течение 10 дней). Анализ гистологических препаратов показал, что при воздействии однократного ЭБС наблюдаются небольшие участки десквамации эпителия и его лимфоидная инфильтрация. Отмечается активизация бокаловидных клеток и клеток Клара. В просвете бронхов выявлялся детрит, состоящий из слущенных эпителиоцитов, слизи и лимфоцитов. При длительном стрессировании участки десквамации эпителия становятся более значительными. Была выявлена вакуолизация цитоплазмы мерцательных эпителиоцитов и дегенеративные изменения их ресничек. В ряде участков многорядный мерцательный эпителий замещался однослойным однорядным, либо многослойным. Бокаловидные клетки выглядели опустошёнными, клетки Клара подвергались дегенерации. Отмечалась выраженная бронхоконстрикция с гипертрофией мышечной пластинки слизистой оболочки бронхов. Таким образом, можно заключить, что длительный стресс вызывает стойкие нарушения эпителиального барьера бронхов и предрасполагает к развитию хронической патологии дыхательной системы. Полученные данные доказывают, что стрессовое воздействие приводит к значительным морфофункциональным изменениям в периферических тканях. Степень выраженности этих изменений напрямую зависит от длительности воздействия стрессовых факторов. В перспективе результаты микроскопической картины бронхиального эпителия можно использовать для подбора адекватных методов коррекции постстрессорных нарушений.

Клеточный каннибализм в культуре клеток эпидермоидной карциномы человека A431

Гарина Анастасия Сергеевна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, pupsovenok@yandex.ru)

Еще в начале XX века внимание ученых привлек уникальный феномен “клетка-в-клетке”, при котором одни клетки оказываются внутри цитоплазмы других клеток. Он получил название клеточного каннибализма (КК). По ряду признаков процесс КК отличается от фагоцитоза. КК особенно характерен для клеток злокачественных опухолей. Феномен “клетка-в-клетке” в некоторых случаях используется для диагностики заболеваний и прогноза развития опухолей, однако точные механизмы, лежащие в основе этого явления, до сих пор не изучены. В связи с этим целью работы было исследование механизмов КК и

поведения клеточных органелл в ходе данного процесса в культуре клеток эпидермоидной карциномы человека А431.

В работе были использованы методы световой, флуоресцентной, видеомикроскопии, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии.

Было выявлено, что в культуре клеток А431 частота встречаемости КК в ходе длительного культивирования не изменялась, и число подобных клеток составляло около 2%. При КК происходило изменение морфологии как поглощенной, так и поглощающей клетки. Поглощенные клетки, как правило, имели округлую форму, при этом среди них встречались клетки на разных стадиях деградации. Размеры таких клеток были примерно вдвое меньше размеров соседних клеток. Поглощенные клетки находились внутри крупных вакуолярных структур. Для поглощающих клеток было характерно изменение формы и расположения ядра. Оно приобретало бобовидную форму и смещалось к периферии. Осуществление контакта между клетками происходило с участием десмосом. На начальных этапах КК наблюдалось перераспределение лизосом, митохондрий и аппарата Гольджи в поглощенной и поглощающей клетках и соответствующая перестройка системы микротрубочек, обеспечивающей перемещение данных органелл. Было выявлено снижение уровня эндоцитоза. В ходе КК происходила деградация поглощенной клетки, проявляющаяся в изменении состояния ядра и цитоплазмы последней: первоначально округлое ядро, богатое эухроматином и имеющее несколько ядрышек, приобретало все более неровные очертания и уменьшалось, хроматин постепенно конденсировался, ядрышки не выявлялись. На заключительных этапах КК ядро подвергалось фрагментации. Кроме того шло постепенное усиление вакуолизации цитоплазмы и деградация внутриклеточных органелл поглощенной клетки, а также закисление каннибалистической вакуоли. При КК не выявлены процессы, характерные для апоптотического пути клеточной гибели, такие как усиление продукции активных форм кислорода, выход цитохрома *c* и активация каспазы-3. Однако при этом обнаружено, что на заключительных этапах усиливаются процессы аутофагии.

Таким образом, можно предположить, что при КК в субстратзависимых культурах происходит лизосоно-опосредованная деградация поглощенной клетки. Этот процесс на начальных этапах включает усиление продуцирования лизосом, источником которых могут быть как поглощающая, так и поглощенная клетки, и активацию аутофагического механизма деградации поглощенной клетки на заключительных этапах ее гибели.

Работа поддержана РФФИ № 08-04-00750-а, НШ 1861.2003.4.

Изучение воздействия митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1 на процесс заживления ран у старых и диабетических мышей

Демьяненко Илья Александрович

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, ilya871@rambler.ru)

Известно, что с возрастом происходит снижение репаративных возможностей тканей. Кроме того, развитие возраст-ассоциированных заболеваний, например, сахарного диабета, приводит к значительным нарушениям заживления ран. В связи с этим актуальными являются исследования, направленные на поиск и разработку препаратов, активирующих процессы репаративной регенерации тканей. Недавно было показано, что митохондриально адресованные антиоксиданты замедляют развитие многих признаков старения и предотвращают развитие целого ряда возрастных патологий. В работе исследовано воздействие антиоксиданта SkQ1 [10-(6'-пластохинонил) децилтрифенилфосфония] на процесс заживления ран у мышей. Животным под наркозом наносили резаную полнослойную кожную рану на спине в межлопаточной области. Проведены 2 независимых эксперимента. Первый эксперимент проведен на старых (25 месяцев) самках гибридах CBAxС57BL/6. Животные с 18-и месячного возраста до окончания эксперимента получали SkQ1 с питьевой водой (100 нмол/кг веса в сутки). Второй эксперимент проведен на 5-ти месячных гомозиготных мутантных мышах C57 BLKS/J, *db/db*, у которых спонтанно к первому месяцу жизни развивается ожирение и симптомы сахарного диабета 2-го типа.

Животные с 2-х месячного возраста и до конца эксперимента получали SkQ1 перорально с помощью механического дозатора (250 нмол/кг веса в сут). Для анализа заживления ран проводили макроскопическое (измерение площади ран на фотоизображениях), гистологическое и иммуногистохимическое исследования. Статистический анализ полученных численных данных проводили, используя непараметрический U - критерий Манна - Уитни. Показано, что длительный (7 мес) приём SkQ1 с питьевой водой вызывал ускоренное сокращение площади ран, уменьшение продолжительности острой фазы воспаления, а также ускорение эпителизации и новообразования соединительной ткани дермы. При этом темпы заживления ран у старых мышей, получавших SkQ1, и молодых контрольных животных были сходными. В опыте на диабетических мышцах C57 BLKS/J, db/db показано, что продолжительное (3 мес) пероральное введение SkQ1 вызывает небольшое достоверное ускорение сокращения площади ран, ускорение эпителизации и уменьшение числа клеток воспалительного инфильтрата в области раны.

Работа выполнена при поддержке НИИ Митоинженерии МГУ.

Влияние экспрессии изоформ p150^{Glued} 1A и 1B на длину и количество отростков (форму) фибробластов

Корнаков Николай Владимирович, Жаппарова О.Н.

(Московский Государственный Университет имени М. В. Ломоносова, Биологический факультет, НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ, Россия, Москва, nikolay.kornakov@gmail.com)

Основной функцией динактина в клетке считается обеспечение связи микротрубочкового мотора динеина с перевозимым грузом, и увеличение его процессивности за счет взаимодействия с микротрубочкой одной из субъединиц динактина – белка p150Glued. Этот белок экспрессируется в виде нескольких изоформ, отличающихся длиной микротрубочко-связывающей области. Полноразмерная изоформа (1A) экспрессируется во взрослом организме только в нервной ткани, и также обнаруживается во всех эмбриональных тканях и в культивируемых фибробластах. Изоформа 1A в культивируемых поляризованных клетках декорирует микротрубочки, обращенные к ведущему краю. Мы предположили, что изоформа динактина 1A может быть вовлечена в процессы поляризации клетки и определять ее форму.

Цель работы - проверка влияния экспрессии изоформ 1A и 1B p150Glued на форму фибробластов. Исследования проводили на культуре эмбриональных фибробластов мыши 3T3, трансфицированных конструкциями, кодирующими слитые с GFP изоформы динактина 1A и 1B. Для характеристики формы клеток измеряли максимальную длину, степень удлиненности (aspect ratio) и циркулярность, то есть близость формы клетки к окружности ($4*\pi*S/P^2$, для идеальной окружности этот параметр равен 1).

Выявлены существенные различия между циркулярностью фибробластов, экспрессирующих изоформы 1A и 1B ($0,26\pm 0,03$ и $0,35\pm 0,04$, соответственно), максимальная длина различалась менее заметно (клетки, экспрессирующие 1A, в среднем на 15% длиннее клеток с изоформой 1B). Также изучена форма клеток с нокдауном по динактину (фибробласты трансфицировали конструкцией для РНК-интерференции p150). Эффективность интерференции проверена с помощью иммунофлуоресценции. Оказалось, что при нокдауне p150Glued клетки становятся более округлыми (0,41). В качестве контроля использовали фибробласты дикого типа и фибробласты, экспрессирующие GFP.

Полученные результаты указывают на то, что изоформы динактина по-разному влияют на форму фибробластов. Экспрессия 1A вызывает увеличение длины клеток и количества отростков, по сравнению с 1B. Кроме того, клетки с нокдауном обеих изоформ динактина имеют меньше отростков, по сравнению с контролем.

Работа поддержана грантом Президента РФ № МК-8703.2010.4.

Характер пролиферативной активности клеток глиомы С6 при изменении действия гравитационного фактора

Роева Маргарита Олеговна

(Институт физиологии НАН Беларуси, Национальная академия наук Беларуси, Минск, Pochta_margo@mail.ru)

Проблема влияния гравитационного фактора на формирование клеток и тканей на разных этапах онтогенеза весьма актуальна. Недостаточно изученным остается злободневный вопрос влияния данного фактора на разные типы клеток, особенно патологически измененные. В связи с этим, весьма важна задача, направленная на анализ закономерностей развития малигнизированных клеток при гипер- или микрогравитации. В экспериментах на культуре клеток глиомы С6 изменяли на $\square 60^\circ$ положение флаконов относительно горизонтальной плоскости через 40–48 часов после достижения конfluence в 70%. Клетки культивировали (концентрация $1,3 \times 10^5$ клеток/мл) во флаконах в среде DMEM с добавлением 10%-ной эмбриональной бычьей сыворотки и 10^{-4} г/мл раствора сульфата гентамицина. Флаконы размещали в CO_2 -инкубаторе при 5% CO_2 и температуре 37 С.

Сопоставляли результаты наблюдений пролиферативной активности клеток глиомы С6 во флаконах, один из которых на протяжении всего эксперимента находился в горизонтальном положении (серия 1), другой располагался под углом $\square 60^\circ$ (серия 2). Опыты дублировали с целью дополнительной верификации наблюдаемых эффектов. Мониторинг аналоговых событий на протяжении 20 часов осуществляли с помощью видеокамеры и накапливали в цифровой форме на компьютере с интервалом в 10 минут. При статистической обработке данных проводили их усреднение (30-и минутные интервалы), сопоставляя особенности пролиферативной активности культуры клеток С6 во флаконах серий 1 и 2.

Установлено, что после поворота флаконов на $\square 60^\circ$ в сравнении с горизонтально расположенными клетками глиомы С6 пролиферативная активность клеток снижается на 52%. Итак, изменение действия гравитационного фактора оказывает ингибирующий эффект на глиальные клетки глиомы С6. Следовательно, сдвиг направленности действия гравитационного фактора отражается на пролиферативной активности патологически измененных клеток, нарушая их развитие. Этот факт перспективен для анализа в будущем способов ингибирования роста злокачественных опухолей в условиях микро- или гипергравитации.

Возрастные изменения пигментного эпителия сетчатки перепела

Серезникова Наталья Борисовна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, natalia.serj@yandex.ru)

Старение – неизбежный процесс, характеризующийся нарушением физиологических функций и снижением адаптационных возможностей. Возрастные изменения глаз затрагивают, прежде всего, пигментный эпителий сетчатки (РПЭ), а также фоторецепторы, мембрану Бруха и хориокапилляры. Такие изменения часто предшествуют развитию серьезных заболеваний глаз, угрожающих значительным снижением зрения и даже слепотой во второй половине жизни.

Хорошей моделью для исследования процессов старения сетчатки и развития заболеваний глаз служит японский перепел (*Coturnix japonica*). Это обусловлено тем, что, помимо морфологического сходства, сетчатка перепела имеет сходный с человеком оксикаротиноидный обмен и короткий период старения (за год в ней происходят изменения, характерные для сетчатки человека в возрасте порядка 70 лет).

Цель работы - выявить возрастные изменения в РПЭ сетчатки перепела. Материал для исследования предоставлен сотрудниками Института биохимической физики им. Н.М.Эммануэля РАН. Образцы сетчатки старых (47 недель) и молодых (12 недель) самцов перепела изучали на светооптическом уровне (фиксация смесью Буэна, заливка в гистамикс,

окраска срезов гематоксилин-эозином) и с помощью электронной микроскопии (фиксация 2,5% глотаральдегидом, заливка в эпон).

При светомикроскопическом исследовании в РПЭ старых животных по сравнению с молодыми наблюдалась дезорганизация и разрозненность в расположении базальных отростков, незначительное увеличение числа ядер на единицу длины РПЭ (на 4,5%). По данным электронной микроскопии, в клетках РПЭ старых птиц накапливается липофусцин в виде гранул разной формы и размера с неоднородным содержимым, довольно часто встречаются митохондрии в виде замкнутых и незамкнутых колец. Также наблюдается нарушение базальной складчатости (она становится более разряженной) клеток РПЭ, утолщение мембраны Бруха.

Таким образом, полученные результаты в целом согласуются с данными литературы по возрастным изменениям в РПЭ сетчатки человека. Однако в нашем исследовании наиболее характерных для сетчатки человека старческих изменений в виде отложений друз вблизи РПЭ у перепела не обнаружено.

Роль аппарата Гольджи в организации системы клеточных микротрубочек.

Фокин Артём Игоревич

(НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, fktimofei@yandex.ru)

Традиционно считается, что единственным центром организации микротрубочек в клетках животных является centrosoma. Однако появились данные о возможности организации микротрубочек в митозе без участия centrosomy. Кроме того, недавно была показана способность мембран аппарата Гольджи нуклеировать микротрубочки. В связи с этим мы решили проверить гипотезу о возможном участии аппарата Гольджи в организации системы микротрубочек в интерфазных клетках.

Исследования проводили на культивируемых клетках двух родственных линий Vero и BS-C-1, выделенных из эпителия почки зелёной марышки. Использовали трёхканальную иммунофлуоресцентную микроскопию фиксированных клеток и прижизненную видеомикроскопию клеток, трансфицированных различными генетическими конструктами.

Нами было показано, что в клетках с радиальной системой микротрубочек в большинстве случаев можно говорить о зоне их схождения, в которой как правило находятся как centrosoma, так и аппарат Гольджи. Нередко именно он играет основную роль в организации микротрубочек, или существует два независимых центра организации. При этом вклад Гольджи в организацию микротрубочек различен у клеток Vero и BS-C-1. Путём восстановления разобранных микротрубочек в клетках с диспергированным Гольджи, мы продемонстрировали также разницу в способности его нуклеировать короткие микротрубочки в клетках двух этих линий. Наконец, цейтраферная видеомикроскопия клеток, экспрессирующих GFP-слитый белок EB-1 показала, что в интерфазе новые микротрубочки в клетках Vero нуклеируются лишь на centrosome, а в клетках BS-C-1 кроме того ещё в некой компактной области в районе ядра, морфологически сходной с зоной аппарата Гольджи.

Полученные данные позволяют нам сделать вывод о том, что в интерфазных клетках млекопитающих аппарат Гольджи участвует в организации радиальной системы микротрубочек, причём в клетках разных линий степень его участия в этом различна.

Работа поддержана грантом МК-3444.2010.4

Выражаю глубокую благодарность своему научному руководителю – Буракову Антону Владимировичу.

Иммуноферментный анализ распределения про- и противовоспалительных факторов в атеросклеротических бляшках сонных артерий человека

Шишкина Валентина Сергеевна

(Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, shishkinavalya@mail.ru)

Острые клинические проявления сердечно-сосудистых заболеваний связаны с развитием нестабильных (склонных к разрывам) атеросклеротических поражений стенок магистральных артерий. Разрывы бляшек происходят в основном по периферии поражения в областях преимущественного расположения лейкоцитарного инфильтрата. Цель исследования заключалась в анализе распределения про- и противовоспалительных факторов, вырабатываемых преимущественно макрофагами, инфильтрирующими центральную (атеронекротическое ядро) и периферические («плечи») области бляшек. В работе исследовали 40 биопсий сонных артерий человека, полученных в ходе эндартерэктомии. С помощью иммуноферментного метода провели анализ распределения провоспалительного цитокина IL-1 β , фактора хемотаксиса MCP1, рогового фактора TGF β и белков протеазно-антипротеазного баланса (металлопротеазы MMP2/9 и тканевые ингибиторы металлопротеаз TIMP1/2) в тканевых экстрактах, полученных из разных областей бляшек. Результаты исследования показали, что в центральных областях бляшек уровень провоспалительных факторов (MCP1, IL-1 β) был выше, чем в периферических, а противовоспалительных (TGF β) – ниже, $p < 0,05$. Это предполагает доминирование провоспалительной субпопуляции макрофагов в центральных областях, а противовоспалительной – в периферической. В то же время уровень MMP2 и MMP9 был ниже в центральных участках по сравнению с «плечами», а уровень их ингибиторов TIMP1 и TIMP2 – выше, $p < 0,05$. Результат согласуется с данными о том, что разрывы бляшек происходят в основном по периферии поражения, так как металлопротеазы участвуют в деградации коллагенового каркаса бляшек. В плечах бляшек наблюдалась положительная корреляция уровня MCP1 с IL-1 β , но отрицательная – с TGF β . Также выявлена положительная корреляция между уровнем MMP2 и TIMP2, а также MMP9 и TIMP1 для каждого из участков бляшек. Обнаружено, что уровни MMP9 и TGF β в плечах достоверно и положительно коррелируют с уровнями MMP9 и TGF β , соответственно, в центре бляшки. Кроме того, уровень TIMP1 в плечах достоверно и положительно коррелирует с количеством MCP1 и TIMP1 в центральных участках, что, по-видимому, связано со схожей провоспалительной активностью макрофагов в этих областях. Таким образом, иммуноферментный анализ тканевых экстрактов каротидных бляшек выявил в них высокий уровень провоспалительных факторов, что свидетельствует о преимущественном присутствии в них провоспалительной субпопуляции макрофагов.

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

Исследование влияния антибактериальных препаратов на структуру синаптомембранных комплексов хромосом в профазе I мейоза самцов мыши

Ацаева Марет Махмудовна

(Институт общей генетики РАН, Россия, Москва, acaeva-mm@mail.ru)

Широкое применение антибиотиков, обладающих высокой метаболической активностью, делает актуальной проблему побочного действия этих препаратов на высокочувствительные к мутагенам дифференцирующиеся половые клетки человека. Актуальность исследования определяется тем, что антибактериальные препараты могут нести не только риск побочных эффектов для пациента, но и генетический риск для его будущего потомства. С быстрым распространением мультирезистентных бактериальных болезнетворных микроорганизмов растет интерес к альтернативным антибактериальным препаратам, в первую очередь - к бактериофагам.

Нами впервые проведено иммуноцитохимическое исследование тотальных препаратов распластанных синаптомембранных комплексов (СК) у половозрелых самцов мыши F1(CBA/лас x C57BL6) массой 20 г, забитых на 36 сутки после окончания 10 дневного введения терапевтической дозы антибиотика цифрана, относящегося к группе фторхинолонов, и

поливалентного риобактериофага «Секстафага». Используются антитела к белкам SCP3 и кинетохора. Этот метод позволяет анализировать разрывы хромосом и нарушение процессов синапсиса и десинапсиса хромосом, идентифицировать стадии мейоза, на которых он блокируется.

Нами установлено, что введение цифрана вызвало: фрагментацию СК в 59,8%, ассоциацию аутосом с половым (XY) бивалентом в 19,61%, асинапсис X и Y хромосомом в 8,82%, асинапсис аутосом – 5,9%, интерлокинг хромосом – 6,86% , нарушение формирования полового тельца – 9,86%, транслокации хромосом 11,76 % и атипичную структуру СК в 2,9% клеток. После введения секстафага количество клеток с нарушениями в структуре СК в среднем в два раза меньше, чем после введения цифрана, а в контроле количество поврежденных клеток приблизительно в 2 раза меньше, чем после введения секстафага. Бактериофаг и цифран отличаются также и по спектру вызываемых нарушений. Например, такие нарушения, как асинапсис аутосом и транслокации хромосом, не были обнаружены после введения бактериофага. Выявленные нарушения (преждевременный асинапсис аутосом и половых хромосом) могут с служить причиной анеуплоидии сперматозоидов и потомства. Клетки в которых не образуется половое тельце, как известно подвергаются селекции.

Эпигенетический статус X-хромосом в линиях индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека

Грачева Екатерина Александровна

(Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск,

katerina.gracheva@gmail.com)

Репрограммирование дифференцированных клеток к плюрипотентному состоянию приводит к морфологическим, транскрипционным, а также эпигенетическим изменениям. Одним из важных эпигенетических феноменов у млекопитающих, в том числе у человека, является процесс инактивации X-хромосомы. Известно, что при получении индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) мыши происходит облигатная реактивация X-хромосомы. Вопрос о том, происходит ли это при репрограммировании дифференцированных клеток человека, в настоящее время изучен недостаточно хорошо. На данный момент показано, что при получении ИПСК с помощью ретровирусной трансдукции фибробластов с набором половых хромосом XX одна из X-хромосом остается неактивной. Однако из-за многообразия методов получения ИПСК можно ожидать, что как и в случае эмбриональных стволовых клеток возможны линии как с одной активной, так и с двумя активными X-хромосомами.

В нашей работе мы исследовали линии ИПСК, полученные из нейральных стволовых клеток плода человека с набором половых хромосом XX с помощью трансфекции плазмидной ДНК, содержащей гены *Klf4*, *Sox2*, *c-Myc* и *Oct4*. При получении некоторых линий в среду добавляли вальпроовую кислоту и ингибитор гистоновой метилтрансферазы G9a, которые увеличивают эффективность получения ИПСК. Во всех исследованных линиях на одной из X-хромосом показано присутствие ковалентных гистоновых модификаций, характерных для неактивного хроматина, кроме того, в данных клетках экспрессируется ген *XIST*. Таким образом, неактивная X-хромосома не реактивируется. При длительном культивировании ИПСК в стандартных условиях происходит потеря маркеров неактивного хроматина, однако, это не приводит к реактивации неактивной X-хромосомы. Кроме того, культивирование ИПСК в среде, содержащей вещества, ингибирующие сигнальные пути дифференцировки (PD0325901, SHIR99021, A83-01) также не способствует реактивации неактивной X-хромосомы, но способствует ускоренной потере и перераспределению маркеров неактивного хроматина.

Типы межклеточных контактов в культуре стволовых клеток амниотической жидкости: нанотрубочки и адгезивные соединения

Давыдова Дарья Александровна

*(Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Россия, Москва,
davydovad@gmail.com)*

Многие исследователи относят стволовые клетки амниотической жидкости человека к мезенхимным стволовым клеткам. Однако одновременная экспрессия в них маркеров мезенхимного и эпителиального типов дифференцировки отличает их от постнатальных стволовых клеток. Мы предположили, что изучение ультраструктурных особенностей этих клеток поможет уточнить их тканевую принадлежность.

Стволовые клетки амниотической жидкости были культивированы на пластике и в коллагеновом геле, после чего проводили электронно-микроскопическое исследование.

При культивировании на пластике клетки сохраняли высокий пролиферативный потенциал, по меньшей мере, в течение 15 пассажей. В коллагеновом геле пролиферация клеток сохранялась, что подтверждалось включением BrdU. Проведенное электронно-микроскопическое исследование показало, что стволовые клетки амниотической жидкости формируют в культуре однослойные пласты. Такой характер роста типичен для эпителиальных клеток. Кроме того, актиновые микрофиламенты образовывали кольцевой пучок в цитоплазме под плазматической мембраной. При культивировании в трехмерном матриксе между стволовыми клетками амниотической жидкости были выявлены типичные для эпителиев адгезивные соединения. Сканирующая электронная микроскопия показала, что клетки в культуре соединялись между собой многочисленными нанотрубочками толщиной 0,02 – 0,1 мкм. Нанотрубочки могли ветвиться, в них были заметны везикулярные утолщения – гондолы. Считается, что они являются участками межклеточной транспортировки. Через нанотрубочки между клетками могут мигрировать не только низкомолекулярные соединения, но и органеллы. В этом состоит их отличие от щелевых контактов. Ранее нанотрубочки были выявлены в культурах некоторых типов клеток, таких как иммунные, нервные, кардиомиоциты, т.е. в тех случаях, когда сигнал между клетками должен передаваться очень быстро. Мы впервые выявили такой тип соединений в культурах стволовых клеток амниотической жидкости.

Таким образом, адгезивные соединения играют важную роль в поддержании целостности клеточных пластов, а нанотрубочки обеспечивают тесную связь между клетками в культуре. По всей видимости, стволовые клетки амниотической жидкости не являются истинно мезенхимными, т.к. могут проявлять и свойства эпителиальных клеток. Возможно, они находятся в состоянии эпителиально-мезенхимного перехода, который активно протекает в эмбриогенезе.

ПОДСЕКЦИЯ «ЭКОЛОГИЯ И ОХРАНА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Характеристика размещения гнезд черноголовой и серой славок в Центральном Предкавказье

Друп Виктория Демировна

(Ставропольский государственный аграрный университет, факультет Защиты растений, Россия, Ставрополь, sylvia_vica@mail.ru)

Специфичность размещения гнезд черноголовой славки *Sylvia atricapilla* состоит в предпочтении опушек, окраин лиственных и смешанных лесов с богатым подлеском и подростом. Особую роль играет расположение кустарника, подлет к которому должен быть менее заметным. На территории антропогенно-измененных районов птицы гнездятся в кустарниках и поросли культурных пород, в городских парках предпочитают кустарники спиреи (*Spiraea crenata* L.).

При попарном сравнении видов растений, на которых черноголовая славка строит гнезда, достоверных различий, в предпочтении какого-либо из них, выявлено не было (слива колючая→граб ($t=1,88$, $P>0,05$); слива колючая→альча ($t=1,80$, $P>0,05$); слива колючая→кизил обыкновенный ($t=1,88$, $P>0,05$); слива колючая→боярышник пятипестичный ($t=1,71$, $P>0,05$); слива колючая→айва ($t=1,96$, $P>0,05$); слива колючая→бузина черная ($t=0,34$, $P>0,05$).

Серая славка *Sylvia communis* предпочитает для строительства гнезд невысокие, отдельно стоящие кустарнички или поросль. В более поздние сроки славки строят гнезда в высоком травостое. Именно в этот период кустарники зарастают высокой травой. Некоторые птицы устраивают гнезда в зарослях травы с тонкими стеблями. Серая славка использует для строительства гнезд множество видов, среди которых достоверных различий выявить не удалось (слива колючая→шиповник ($t=1,59$, $P>0,05$); слива колючая→груша кавказская ($t=2,01$, $P>0,05$); слива колючая→боярышник пятипестичный ($t=1,70$, $P>0,05$); слива колючая→вяз ($t=1,59$, $P>0,05$); слива колючая→крапива ($t=1,91$, $P>0,05$); слива колючая→злаковые травы ($t=1,80$, $P>0,05$).

Как видно, черноголовая и серая славки в одинаковой мере используют для строительства гнезд кустарник сливы колючей. За этот ресурс возможна конкуренция, так как различия не достоверны ($t=0,29$, $P>0,05$).

Использование черноголовой и серой славками широкого спектра растений для постройки гнезд свидетельствует о высокой степени экологической пластичности гнездовых инстинктов вида.

Оценка парниковой детерминанты в динамике среднесуточной температуры атмосферы

Дубровина Елизавета Сергеевна, Моничев А.Я.

(Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Россия, Нижний Новгород, esd22@mail.ru)

При изучении климатических изменений, вызванных усилением парникового эффекта, как правило, основное внимание обращается на изменение среднегодовых значений температуры. В то же время более полное представление об изменениях климата можно составить, принимая во внимание особенности поведения температуры в течение года, поскольку именно оно определяет характер ее воздействия на живые организмы, в том числе человека, и экосистемы.

Для анализа использовались данные ежедневных изменений температуры в г. Н.Новгороде с 1936 по 2009 г.г., а также данные температурных измерений летом 2010 г. в городах Евразии. Оценка детерминированной составляющей и особенностей хода температуры осуществлялся с помощью метода восстановления аттрактора в фазовом пространстве, анализа Фурье, а также мультифрактального анализа, основанного на методе максимумов вейвлет-преобразования.

Анализ динамики временных рядов среднесуточных температур в период 1936-2009 г.г. выявляет усиление на фоне постоянно присутствующего стохастического хаоса признаков процессов, связанных с внутренней динамикой климатической системы. Это проявляется в периодах относительно стабильной температуры, разделенных значительными межсуточными перепадами (динамика вида «зашумленный меандр»). Модель Лоренца позволяет связать отмеченный феномен меандровых проявлений детерминированного хаоса с усилением парникового эффекта. Из-за его усиливающегося влияния происходит рост разницы температур между нижними и верхними слоями атмосферы, что согласно модели Лоренца должно вызвать усиление детерминированного хаоса и меандрового характера динамики температуры.

Анализ хода температуры в течение лета 2010 г. в различных городах выявляет более сильную выраженность его детерминированной составляющей (меандрового характера хода температуры) в Европейской части континента (особенно на территории России, в городах, где наблюдались аномально длинные периоды жаркой погоды). Кроме того, выявлена связь характеристик мультифрактального спектра, отражающих регулярность температурных изменений и величину среднего межсуточного перепада температуры, с географической широтой.

Решение проблемы экологической безопасности региона, расчистки русла реки Медведицы в Волгоградской области

Ошкин Михаил Иванович¹, Полозова И.А.², Ильинкова Ю.Н.¹

(¹Волгоградский государственный технический университет, факультет Технологий пищевых производств, ²Волгоградская региональная общественная научная организация «Экологическая академия», Россия, Волгоград, Lion25.07.88@mail.ru, Polozova.Irina@gmail.com, lyn@rambler.ru)

Река Медведица в Волгоградской области - источник местного водоснабжения г.Михайловки. Участок реки в районе водозаборных сооружений, постепенно превращается в перекат из донных отложений. Это способствует полному занесению устройства (водозабора) наносами и вызовет изменения конфигурации русла реки Медведица, ухудшит ее экологическое состояние и воспрепятствует бесперебойной работе водозабора.

Целью проекта являлось решение сложившейся экологической проблемы и извлечение строительного песка различных фракций объемом до 100 тысяч т/год и его использование для строительной индустрии.

Для решения задачи было изучено несколько методов. Наиболее выгодным оказался метод очистки речной воды от природных загрязнителей, прежде всего песка, путем расчистки русла реки Медведица в районе водозабора ОАО «Себряковцемент». Для выбора оптимальных параметров предложенного способа расчистки проведено гидрохимическое исследование речной воды, изучены геологическое строение и гидрологические условия реки, исследованы сток и русло, особенности грунта на участке 2 км, рельеф местности и состояние биологического разнообразия.

Научное обоснование предложенного способа позволило выдать задание для проектирования расчистки русла реки Медведицы, осуществить проектирование и начать его реализацию уже в 2010 году.

Затраты на разработку проекта, его научное обоснование, проектирование и внедрение составляют с учетом приобретения оборудования (земснаряд и другая техника, энергоносители) 90-95 млн. рублей. Однако при ежегодной расчистке русла реки Медведицы из водно-песчаной пульпы (90:10%) извлекается до 100 тысяч тонн строительного песка каждый год, также возможно привлечение, в этом случае, государственных средств (до 400 млн. рублей) для решения экологических проблем, связанных с расчисткой русла, и вопросов рационального природопользования. Это позволяет считать проект инвестиционно привлекательным.

Ярусное распределение членистоногих в травянистой растительности и устойчивость экосистем

Семёнов Александр Николаевич

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, sashasem7@yandex.ru)

Современное сельское хозяйство использует для защиты растений пестициды, которые наносят большой вред окружающей среде, нарушая устойчивость экосистем. Экологическая защита растений основана, прежде всего, на максимальном сохранении биоразнообразия, при этом увеличение устойчивости агроэкосистем происходит за счёт природных биотопов, из которых членистоногие переходят на поле.

Для организации экологической защиты растений необходима полная информация о видовом составе и численности обитателей поля и окружающих его биотопов. Однако вплоть до настоящего времени исследователи не уделяли должного внимания обитателям среднего яруса травянистой растительности.

Сбор материала проводили в Ставропольском крае в июне 2009 и 2010 года на полях озимой пшеницы. Членистоногих регулярно собирали тремя способами: энтомологическим кошением - для сбора насекомых с верхних частей растений; методом контейнеров – для сбора падающих с растений насекомых из верхнего и среднего яруса; методом почвенных ловушек – для учёта активных на почве членистоногих, обитателей нижнего яруса.

Полученный материал позволил установить, что часть видов членистоногих, обитающих на растениях, вылавливаются исключительно одним из методов. Для большинства же видов, их численность складывалась из сборов двумя методами. В этом отношении наиболее информативным оказался материал, полученный с помощью контейнеров из среднего яруса растительности, недоступного для сачка и почвенных ловушек. Этим способом были собраны как фитофаги, так и хищные членистоногие, которые способны предотвратить вспышки массового размножения вредителей и обеспечить устойчивость агроэкосистемы. Некоторые опасные вредители зерновых культур также оказались обитателями среднего яруса. По результатам сборов, удалось установить связь между численностью видов насекомых среднего яруса, попадающих в контейнеры и высотой растений. На поле с большей средней высотой пшеницы численность и видовой состав членистоногих среднего яруса значительно превосходили эти показатели на посевах низкорослой пшеницы.

Таким образом, изучение ярусного распределения комплексов членистоногих в травянистой растительности показало особое значение обитателей среднего яруса для разработки экологической защиты растений и создания устойчивых агроэкосистем.

Растительность аренных черноольшаников Ростовской области

Соколова Татьяна Александровна

(Институт аридных зон ЮНЦ РАН, Россия, Ростов-на-Дону, sta1562@yandex.ru)

Ростовская область относится к лесодефицитным районам России. Здесь проходит южная (и отчасти – юго-восточная) граница лесов в европейской части страны, что определяет их флористическое разнообразие и уникальность. По топологии естественные леса Ростовской области делят на байрачные, пойменные и аренные. Наибольший интерес для нас представляют аренные леса, произрастающие на древних песчаных террасах рек. Лесные сообщества на песчаных массивах не образуют сплошных участков, а сосредоточены в разного рода понижениях.

Большие площади аренных лесов приходятся на черноольшаники, их сообщества отличаются повышенной влажностью, большим видовым разнообразием, наличием бореальных видов.

Классификация растительности по методу Браун-Бланке для лесов Ростовской области ранее не приводилась. Нами проведено 149 геоботанических описаний, 90 приходятся на черноольшаники. Сообщества описанных ассоциаций распространены на северо-востоке Шолоховского района. В древостое в первом ярусе доминируют *Alnus glutinosa* и *Betula pendula*. Во втором ярусе обильны *Acer tataricum* и *Padus avium*. Выделение новой ассоциации основано на сравнении наших данных с работой Онищенко. По ряду

диагностических видов: *Acer tataricum*, *Pyrus communis*, *Crataegus curvisepala* сообщества растительности черноольшаников северо-запада Шолоховского района отнесены к выделенной им ассоциации на востоке Украины. Но в остальном сообществе разнятся и по ряду видов: *Ulmus glabra*, *Populus tremula*, *Equisetum hyemale* были выделены новые субассоциация, фация и вариант.

В результате дана характеристика новых синтаксонов растительных сообществ аренных черноольшаников севера Ростовской области: *Scutellario dubiae-Alnetum* ass. nov. prov., *Ulmetosum glabrae* subass. nov. prov., фация *Populus tremula*, вариант *Equisetum hyemale* и описана ассоциация приводимая для лесов Восточной Украины: *Aceri tatarici-Alnetum*.

Продромус

Класс *Quercus-Fageteta* Br.-Bl. et Vlieger in Vlieger 1937

Порядок *Fagetalia sylvaticae* Pawlowski, Sokolowski et Wallisch 1928

Союз *Alnion incanae* Pawlowski, Sokolowski et Wallisch 1928

Асс. *Scutellario dubiae-Alnetum* ass. nov. prov.

Вариант *Scirpus sylvaticus*

Асс. *Aceri tatarici-Alnetum* Onyshchenko 2009

Субасс. *Ulmetosum glabrae*

Фация *Populus tremula*

Вариант *Equisetum hyemale*

**Влияние рекреации на естественное лесовозобновление и эмиссию CO₂ из почвы в атмосферу в лесных экосистемах национального парка «Валдайский»
(на примере центра отдыха "Северное Сияние")**

Тимошенко Владислава Витальевна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Россия, Москва, tororoto@rambler.ru)

На примере лесных сообществ центра отдыха «Северное сияние» (национальный парк «Валдайский») изучено влияние рекреационной нагрузки на естественное лесовозобновление и дыхание почв. Учет естественного возобновления осуществляли по методике А.В Побединского. Выявлено, что рекреационное лесопользование влияет на все компоненты биогеоценоза: живой напочвенный покров, подлесок, подрост, древесный ярус, а также почву. Продолжительное воздействие рекреационных нагрузок приводит к деградации лесных фитоценозов. На первом этапе лесовозобновительного процесса рекреационное воздействие на живой напочвенный покров способствует естественному возобновлению. Дальнейшее увеличение нагрузок приводит к гибели всходов, не позволяя им перейти в категорию подростка. При этом формируется мозаичность напочвенного покрова, представляющая собой сочетание вытопанных и невытопанных участков леса, что обуславливает специфику появления и размещения всходов, а также последующее расположение подростка под пологом рекреационных древостоев. Поток CO₂, направленный из почвы в атмосферу определяли методом закрытых камер, прибором LI-6200 (LI-Cor Inc., Lincoln, Небраска США).

Выявлено статистически достоверное увеличение дыхания почв в условиях рекреации по сравнению с контрольными постоянными точками учета. Вероятно, увеличение эмиссии CO₂ обусловлено второй степенью дигрессии почвенного покрова на выбранных пробных площадях, для которой характерно разрушение растительного покрова. При этом уплотнение верхнего почвенного слоя на данном этапе не происходит. Интенсивность эмиссии возрастает из-за увеличения площади взаимодействия верхнего почвенного слоя и атмосферы и изменения жизнедеятельности микрофлоры почвы.

Особенности образования, разложения и токсикологическое действие твердых бытовых отходов на территории Среднего Приобья

Фромм Ксения Андреевна

(Нижевартовский государственный гуманитарный университет, Естественно-географический факультет, Россия, Нижевартовск, lukoshko_destroy@mail.ru)

Цель работы: выявить особенности накопления, скорость разложения и токсичность различных видов твердых бытовых отходов, образующихся на территории Нижневартовского района и г. Нижневартовска, Ханты Мансийского Автономного Округа - Югра. Анализировали твердые бытовые отходы населения, образуемые на территории Нижневартовского района и г. Нижневартовска. Были исследованы следующие параметры: особенности разложения различных типов отходов, токсичность их продуктов разложения по скорости прорастания семян, приросту одноклеточной водоросли *Chlorella vulgaris*, численности микроорганизмов в почве.

Согласно социологическому опросу, проведенному среди населения, данным отчетов по г. Нижневартовску ежегодно образуется до 803кг. мусора на человека и в целом по городу 2007500 т. мусора в год.

Самую высокую скорость разложения имеют пищевые отходы, которые разлагаются в течении 2-4 недель, бумага (газеты, офисная бумага, глянецовые журналы, бумага для компьютеров, картон) и текстиль практически полностью разлагаются за 2-3 года. За время исследования (1-2 года) стекло, стеклянные изделия, металлические изделия, пластик, деревянные изделия не разлагались.

Среди всех изученных видов отходов по комплексу биологических методов, были выявлены наиболее токсичные - офсетная бумага SvetoCopy, калька промасленная, прорезиненные обои и обои с виниловым рисунком. Прирост водоросли *Chlorella vulgaris* в почвенных вытяжках данных образцов был наименьшим, коэффициент токсичности наиболее высок (соответственно 0,3, 0,27, 0,26, 0,25).

Полученные результаты по скорости разложения, токсичности различных видов твердых бытовых отходов на территории Среднего Приобья, считаем необходимым при их складировании на полигонах и утилизации учитывать данные параметры. Актуальным является разделение твердых бытовых отходов на классы: бумага и текстиль, пластик, металл, стекло, пищевые отходы, неорганика (керамика, камни), деревянные отходы.

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

Биомониторинг металлов на территории Ивановской области по хвое ели (*Picea abies*)

Абдалла Ахмед Али, Дунаев А.М., Латухина К.С.

(Ивановский государственный химико-технологический университет, факультет Неорганической химии и технологии, Россия, Иваново, Kannikiy@inbox.ru)

Одними из наиболее опасных поллютантов являются металлы, в большинстве своем имеющие техногенное происхождение. В работе проведено исследование уровней содержания металлов в хвое ели обыкновенной (*Picea abies*) на территории Ивановской области. Было обследовано 39 точек пробоотбора со средним расстоянием между точками 20 км. В каждой точке было отобрано по одной пробе хвои по общепринятой методике и произведен пробоотбор образцов почвы. После высушивания, озоления и кислотной экстракции в хвое определялось содержание металлов методом атомно-абсорбционной спектроскопии.

Данные свидетельствуют о низком содержании металлов. Концентрация Pb, Co, Cr не достигла даже порога обнаружения. Никель и кадмий обнаружены лишь в двух точках пробоотбора. Остальные элементы являются макро- и микроэлементами питания растений и равномерно распределены по всему массиву данных. Для более наглядного и удобного анализа полученных данных были построены векторные карты концентраций металлов в хвое на территории области, что дало возможность выявить возможные источники загрязнения.

Иллюстрацией подобного анализа служит сопоставление содержания цинка в хвое и хрома, кадмия и никеля в почве. Наличие участка с повышенным содержанием этих металлов вблизи г. Вичуга свидетельствует о наличии на территории Вичугского района крупного источника эмиссии цветных металлов. Наиболее вероятно это связано с деятельностью машиностроительного завода г. Вичуги.

Однако, в целом, распределение металлов по территории области носит равномерный характер, что указывает на их природное происхождение. Для выявления взаимосвязанного влияния воздействия различных металлов был произведен факторный анализ полученных данных. Результаты анализа позволили сгруппировать обнаруженные металлы в два фактора: первый (Cd, Ni, Mn) – металлы преимущественно антропогенного происхождения, зоны наибольших их концентраций расположены вблизи промышленных объектов и второй фактор – Zn, Cu, Fe – металлы естественного происхождения.

Биоэкологические особенности развития яблонного цветоеда и меры борьбы с ним в условиях Саратовской области

Афанасьева Ольга Анатольевна

*(ФГОУ ВПО «Саратовский аграрный университет имени Н.И. Вавилова», Россия,
Саратов, elena-entomol@yandex.ru)*

Яблонный цветоед *Anthonomus pomorum* L. наносит значительный ущерб урожаю яблони. В связи с этим встает задача изучения биоэкологии вредителя и мер борьбы с ним, учитывая зональные особенности.

Исследования проведены в 2009-2010 гг. на территории ООО «Мальт» Саратовского района Саратовской области. Весной имаго фитофага пробуждаются при среднесуточной температуре воздуха выше +6°C. Жуки питаются на набухающих почках при ясной погоде с 10 до 15 часов, выгрызая округлые язвочки. При среднесуточной температуре выше +10°C происходит спаривание. Яйцекладка длится с фазы «выдвижение бутонов» до фазы «рыхлый бутон». В раскрывшиеся бутоны яблони жук яйца не откладывает.

Развитие цветоеда скоротечно и существенно зависит от погодно-климатических условий. Первые личинки отмечаются во II декаде мая, массовое их появление наблюдается в начале III декады мая. Похолодание в начале июня продлевает стадию куколки. Появление молодых жуков происходит с конца I декады июня.

Испытаны инсектициды в борьбе с яблонным цветоедом. Опыскивания проводили в два срока: 1) в период начала «плача» и 2) в фазу «розового бутона», по двум схемам. Первая схема включала фосфорорганический инсектицид Фуфанон 57% к.э., который был взят в качестве эталона, и биологический препарат Фитоверма-М 0,2% к.э. Во второй схеме использовались фосфорорганический инсектицид Данадим 40% к.э. и неоникотиноид Актара 25% вдг. Результаты первой обработки показали, что биологическая эффективность Данадима составила 98,5%, а Фуфанона - 70,4%.

Во второй обработке эффективнее оказалась Актара: процент поврежденных бутонов в этом варианте составил 5,8%, а у Фитоверма-М - 13%. В контроле поврежденность бутонов фитофагом превышала ЭПВ более чем в два раза.

Исследования промежуточных хозяев дикроцелиоза на примере наземных моллюсков класса *Gastropoda* на территории Курской области.

Бирюков Александр Юрьевич

*(Курский государственный университет, Естественно – географический факультет,
Россия, Курск, biryukovsania@yandex.ru)*

Наземные моллюски являются облигатным звеном в эпизоотологической цепи дикроцелиоза. Однако лишь немногие виды из богатой фауны таких моллюсков являются потенциально специфическими промежуточными хозяевами *Dicrocoelium lanceatum* (Stiles et Hassal, 1896).

Для Курской и смежных областей этот вопрос совершенно не изучен. Исследования проводились в период с апреля по октябрь 2010 года. На видовой состав наземных моллюсков нами обследованы пастбища 15 хозяйств 6 районов Курской области (Курский, Суджанский, Кореневский, Золотухинский, Фатежский, Поньровский).

Обследовались различные участки пастбищ: кустарники, лесные опушки, склоны холмов, оврагов, балок, долины и поймы рек. Для количественного учёта в местах типичных биотопов наземных моллюсков закладывались контрольные площадки в один квадратный

дециметр и более в зависимости от состава обнаруженных моллюсков и частоты их заселения.

Собранные моллюски вскрывались и исследовались на заражённость личинками ланцетовидного сосальщика. Определение видового состава, количественный учёт собранного материала, изучение зараженности моллюсков личиночными стадиями *D. lanceatum* проводили в НИИ «Паразитология».

На обследованных нами пастбищах обнаружено 11 видов наземных раковинных моллюсков, относящихся к 7 семействам класса *Gastropoda* отряда *Stylommatophora*: *Succinea putris* Drap., *Succinea preifferi* Rssm., *Succinea oblonga* Drap., *Cochlicopa lubrica* Risso, *Chondrula tridens* Mul., *Clausilia pumila* Drap., *Zonitoides nitidus* Mul., *Eolata fruticum* H., *Zenobiella rubiginosa* A.Schm., *Euomphalia strigella* Drap., *Helix pomatia* H.

Личиночные стадии *D. lanceatum* были выявлены только у: *S.putris* экстенсивность инвазии (ЭИ) составила 5,6%, *C.lubrica* (ЭИ - 6,3%), *C. tridens* (ЭИ - 10,5%) и у *E.strigella* (ЭИ - 8,8%).

Полученные в ходе исследований данные свидетельствуют о неблагоприятной ситуации по дикроцелиозу среди наземных моллюсков, это создаёт все предпосылки для спонтанного заражения дополнительных хозяев – муравьёв.

Исследования проведены при финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно - педагогические кадры инновационной России на 2009 - 2013 гг.» государственного контракта № 14.740.11.0412.

Трофический сетевой анализ: определение состояния пастбищных экосистем

Буждыган Оксана Ярославна

(Черновицкий национальный университет им.Ю.Федьковича, факультет Биологии,

Экологии и Биотехнологии, Украина, Черновцы, oksana_buz@rambler.ru)

Трофическая сеть экосистемы включает в себе пищевые цепи между организмами. В сравнении с индивидуальными характеристиками особей и популяционными показателями, структура трофической сети более устойчива во времени и пространстве. С другой стороны, трофическая структура отображает не только биологические объекты экосистемы, но и их функциональную роль. Всё это делают ее важным объектом экологических исследований.

Исследовали 31 пастбищную экосистему Западной Украины. Материалы и образцы для создания пищевых сетей собраны в сезоны 2005, 2006 и 2007 гг. Для моделирования и агрегирования сетей использованы методы Социального Сетевого Анализа UCINET 6. Анализировались следующие показатели: число трофовидов, N ; число трофических связей, L ; плотность связей, L/N ; связанность, L/N^2 ; число удельных трофоклассов (C), N/C ; относительная связанность $L/C*(C-1)*100$; число избыточных связей, $(L-C-1)/100$; выравнивание связей, $LF = - \sum_i (m_i / L) \log_2 (m_i / L)$; m_i – число связей трофокласса “ i ” с другими трофокласами; структурно-функциональная сложность, $(LF*NF)^{1/2}$, n_i – число трофовидов в трофокласе “ i ”, $NF = - \sum_i (n_i / N) \log_2 (n_i / N)$; структурная насыщенность, $C/N*100$.

На основе положительной корреляции с показателями продукции растений и отрицательной корреляции с показателями пастбищной деградации и синантропизации пастбищных растительных сообществ, ряд параметров сети рассматривался как индикаторы устойчивости пасторальных экосистем. Это число трофовидов, трофических связей, плотность связей, связанность, число удельных трофоклассов, относительная связанность, число избыточных связей. Такие показатели как выравнивание связей, структурно-функциональная сложность, структурная насыщенность показали отрицательную корреляцию с растительной продукцией и положительную корреляцию с пастбищной деградацией и синантропизацией, что и определило их к числу индикаторов неустойчивости пастбищных экосистем.

Состояние пастбищных экосистем оценивали сопоставлением рейтингов названных индексов устойчивости и неустойчивости. При преобладании рейтинга сетевых индексов-

индикаторов устойчивости над индикаторами неустойчивости, состояние экосистемы оценивали как стабильное, и наоборот. Среди 31 исследуемых пастбищ 16 экосистем определены стабильными.

Исследование биохимического состава оленьего молока

Васильева Мария Егоровна

(Северо–Восточный федеральный университет, Биолого-географический факультет, Россия, Якутск, Mashkvasi@mail.ru)

Оленьё молоко количественно превосходит коровье по содержанию основных компонентов: жира, белка, казеина, альбумина, кальция, магния, калия, фосфора и определяемых микроэлементов, следовательно, является ценным пищевым продуктом. Исходя из этого мы поставили цель - изучить биохимический состав оленьего молока для того, чтобы использовать в питании человека, лечении и профилактике ряда заболеваний и возможности применения в качестве компонентов гигиенических и профилактических средств.

Биохимический состав молока определен на инфракрасном анализаторе NIR SCANNER model 4250, плотность, кислотность, белок, жир в молоке определены по методикам ВИЖ, а также на приборе «Клевер» экспресс-методом, согласно ГОСТ-ам. Были проведены исследования молока в замороженном и свежем виде.

При сравнении оленьего молока, например, с коровьим было выявлено следующее: коровье - белок(3,2%), казеин(2,6%), альбумин(0,5%), жир(3,8%), лактоза(4,8%), кальций(0,120%); оленьё – белок(30,59%), казеин(11,5%), альбумин(8,7%), жир(24,8%), лактоза(3,4%), кальций(0,74) итд. Содержание компонентов в оленьем молоке при замораживании практически не изменилось, что естественно, поскольку замораживание может предполагать качественные изменения тех или иных веществ, а не их наличие или отсутствие

Оленьё молоко содержит практически все компоненты, характерные для молока других видов животных. Разницу составляет в основном их процент и некоторые особенности состава. Отмечено, что молоко самки северного оленя схоже по составу и свойствам с молоком животных, не подвергавшихся целенаправленному глубокому воздействию со стороны человека (лось, антилопа-канна, верблюд и др.). Северные олени обитают на относительно экологически чистой территории. Тем не менее, загрязнение все же присутствует, на что указывает содержание токсичных элементов. Содержание свинца близко к величине предельно допустимого уровня, а в нативном молоке даже немного превышает ее, что может быть связано с ухудшением экологического равновесия. Загрязнение оленьего молока посторонними веществами можно использовать как индикатор экологического благополучия мест разведения оленей.

Содержание тяжелых металлов в почве и пастбищной растительности Ботлихского и Новолакского районов Республики Дагестан

Гаджиева Зайнаб Ярославовна, Рамазанова М.Р.

(Дагестанский государственный университет, Эколого-географический факультет, Россия, Махачкала, zainabka-89@mail.ru)

Почва обладает способностью накапливать весьма опасные для здоровья человека загрязняющие вещества, например тяжелые металлы. Тяжелые металлы, поступающие на поверхность почвы, накапливаются в почвенной толще, особенно в верхних гумусовых горизонтах, и медленно удаляются при выщелачивании, потреблении растениями.

Анализ почвенных проб на валовое содержание тяжелых металлов Ботлихского района показал: превышения содержания меди в с. Шодрода (1,7 ПДК), цинка и свинца в с. Рахата (1,7; 1,5 ПДК). Также обнаружено превышение содержания подвижных форм меди, цинка, марганца, свинца, никеля и кобальта. В исследованных пробах пастбищной растительности наблюдается превышение МДУ кобальта – с. Хелетури (1,68 ПДК) и кадмия – с. Ансалта и с. Рахата №1 (от 1,4 до 1,6 ПДК).

Анализ почвенных проб на валовое содержание тяжелых металлов Новолакского района показал незначительные превышения содержания свинца в с. Дучи (1,05 ПДК) и с.Новолакское (1,04 ПДК) и обнаружено превышение содержания подвижных форм меди, марганца, свинца, и никеля. В исследованных пробах пастбищной растительности наблюдается превышение МДУ кобальта – с. Гамиях (1,58 ПДК) и превышения содержания кадмия – с. Тухчар и с. Чапаево (от 1,06 до 1,2 ПДК)

Таким образом, проведенный анализ качества почвы и пастбищной растительности показал превышение ПДК ряда тяжелых металлов. Превышение допустимых значений содержания тяжелых металлов в почве способствует накоплению этих элементов в сверхнормативных количествах в кормах и продуктах питания.

Перспективы использования лиан в озеленении г.Москвы

Губина Александра Валерьевна

(Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева, факультет Садоводства и Ландшафтной архитектуры, Россия, Москва, leva@starlink.ru)

Проблемы озеленения г.Москвы связаны с плотностью застройки; с возрастанием площадей, неудобных для озеленения; с ухудшением экологической обстановки. Вертикальное озеленение с помощью лиан позволяет благоустроить городские объекты, где невозможно применение традиционных способов озеленения. Однако в г.Москве вертикальное озеленение мало распространено.

Предмет нашего исследования - изучение использования лиан в озеленении городских объектов и территорий. На первом этапе исследования был проведен анализ научной литературы по теме работы и изучение опыта применения лиан в озеленении городов Западной Европы (материал был собран автором летом 2010 г.).

Анализ научной литературы позволяет выделить биологические, экологические, декоративные особенности видов лиан; рекомендации по их выращиванию и применению в озеленении. Многие авторы отмечают благоприятное воздействие лиан на окружающую среду и здоровье человека. Изучение опыта благоустройства городов Швейцарии, Германии, Франции показало, что вертикальное озеленение с помощью лиан там широко применяется: используются почти все известные виды лиан; они выполняют декоративные и утилитарные функции; условия выращивания лиан разнообразны.

При подборе ассортимента лиан для озеленения г.Москвы необходимо учитывать климат, почву, экологическую обстановку столицы и биоэкологические особенности лиан: морозостойкость, нетребовательность к почвам, стойкость к болезням, декоративные характеристики. Опыт использования лиан в озеленении городов Западной Европы может быть полезен для озеленения г.Москвы: малоэтажных зданий (детских садов, кафе, административных зданий и др.) и балконов, лоджий, стен высотных зданий; для декорирования заборов, столбов, колонн, мостов, въездов в тоннели. Расширению возможностей использования лиан при благоустройстве г.Москвы, на наш взгляд, будет способствовать: совершенствование технологий создания опор для лиан с учетом способов прикрепления лиан; а также подбор эффективных стимуляторов роста для выращивания лиан с учетом экологической обстановки г.Москвы.

Распределение урана в биомассе водного растения *Elodea canadensis*

Давыдова Наталья Сергеевна¹, Зотина² Т.А.

(¹Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Сибирский Федеральный Университет, ²Институт биофизики СО РАН, Россия, Красноярск, n.s-davidova@mail.ru)

В воде реки Енисей вблизи Горно-химического комбината РОСАТОМа регистрируются повышенные концентрации урана, в несколько раз превышающие фоновые. Макрофиты, произрастающие в реке, способны накапливать радионуклиды в своей биомассе. Распределение радионуклидов в клетках растений определяет их дальнейшую миграцию в экосистеме, в том числе по пищевой цепи. В данной работе исследовалось распределение урана (²³⁸U) по клеточным компартментам и биохимическим компонентам биомассы водного растения *Elodea canadensis*, накопленного из воды.

Начальные концентрации урана в воде не превышали 1 мг/л и были, согласно сделанным нами оценкам, нетоксичными для растения. Фракционирование биомассы растений проводили методами, описанными нами ранее. Концентрации урана в пробах измеряли на масс-спектрометре Agilent-7500 (США) в Институте химии и химической технологии СО РАН (Красноярск).

Уран, поглощенный растением из воды был в основном связан с клеточными стенками, плазмалеммой и органеллами (до 94 %), небольшая доля урана (6%) могла быть растворена в цитоплазме. Биохимическое фракционирование биомассы показало, что доля урана во фракции липидов составляла от 3 % до 12 %. Доля урана в остатке биомассы, которую составляла, в основном, клетчатка, возрастала от 3 до 80 % при увеличении концентрации урана в воде. Доля урана в белково-углеводной фракции (щелочной экстракт) составляла 16-95 % и уменьшалась при увеличении начальной концентрации урана в воде. Разделение белково-углеводной фракции показало, что большая доля урана связана с углеводами. Таким образом, биохимическое фракционирование показало, что уран, поглощенный растениями из воды, имеет большее сродство к углеводам, составляющим биомассу, чем к белкам.

Опыт определения грибного аэропланктона станций Московского метрополитена.

Данилогорская Анастасия Александровна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, факультет Почвоведения, Россия, Москва, littlefox.06@mail.ru)

До сих пор в исследованиях микологического состояния города основное внимание уделяется воздушной среде различного рода жилых и общественных помещений, но состояние транспортных помещений почти не изучено. Нет данных по московскому метрополитену, где суточная нагрузка в рабочие дни - > 9 млн.пассажиров.

Цель работы - оценка микологического состояния воздушной среды станций Московского метрополитена «Парк культуры радиальная», «Парк культуры кольцевая» и «Планерная». Отбор проб проводили в зимне-весенний период 2010 г. в центре станций и у края платформы на выходе поезда из тоннеля во временной интервал с 6:30-8:00 и 18:00-20:00 часов. Определяли численность и состав грибных комплексов при посеве импактором ПУ-1Б (объем пробы 100 л) на питательную среду Чапека, а также прямым счётом численности грибных диаспор при люминесцентной микроскопии.

Содержание грибных диаспор в воздухе станций метро в среднем составляло $191,3 \pm 121,8$ КОЕ/м³, что соответствует по данным Американского Национального Аллергологического Бюро «низкому» (до 900 КОЕ/м³), а по классификации европейских стран (проект ЕСА COST 613 19930) «среднему» (100 – 500 КОЕ/м³) уровням микологического загрязнения. При прямом учете численность грибного аэропланктона оказалась на три порядка выше (до $659,59 \times 10^3$ диаспор/м³), причем около 30% спор оценивались при окраске витальным красителем Ноеchst 33342 как живые.

Содержание диаспор было выше в утреннее время на выходах из тоннелей (в среднем $110,0$ КОЕ/м³), чем в центре станций в это же время (в среднем $69,45$ КОЕ/м³). Численность грибного аэропланктона в воздухе ст.«Планерная» в центре станции в вечернее время была существенно выше ($148,33 \pm 30,12$ КОЕ/м³), чем в наземной воздухе вблизи от станции ($33 \pm 11,4$ КОЕ/м³). Аэропланктон исследованных станций Московского метрополитена был представлен видами родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Mortirella*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Ulocladium*, *Stachybotrys*, *Acremonium*, *Tritirachum*, *Paecilomyces*, стерильными светлыми и тёмноокрашенными мицелиями и дрожжами. Отмечены потенциально патогенные грибы - *Paecilomyces variotti*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavius*, *A. niger*.

Состояние качества питьевой воды Ботлихского и Новолакского районов Республики Дагестан

Даудова Мадина Гасан-Гусейновна, Керимова Д.З.

*(Дагестанский государственный университет, Эколого-географический факультет,
Россия, Махачкала, mahach1989@mail.ru)*

Детский организм - чувствительный индикатор экологического неблагополучия территории. У детского населения сельской местности среднемноголетние интенсивные показатели онкозаболеваемости в 2 раза превышают таковую в городах Республики Дагестан.

Анализ питьевой воды в населенных пунктах Ботлихского и Новолакского районов с высокими показателями онкозаболеваемости показал превышение ПДК гидразина, меди, свинца, железа, марганца, молибдена, кобальта и никеля, обладающих канцерогенными свойствами, из которых гидразин, железо и марганец значительно превышают нормативы по ГОСТ.

Так, гидразин и марганец превышают ПДК практически во всех источниках водоснабжения Ботлихского района. Превышение содержания меди отмечено в с. Ботлих (2,25 ПДК) и с. Ашино (1,71 ПДК).

Анализ качества питьевой воды в населенных пунктах Новолакского района показал превышение гидразина, железа и марганца практически во всех источниках водоснабжения. Значительное превышение нитратов обнаружено в источнике №4 (родник Чайшинский) с. Тухчар (3,7 ПДК). Превышения содержания меди наблюдается в с. Чапаево, с. Тухчар, с. Ахар-Бонаюрт (от 1,26 до 2,16 ПДК). В трех источниках питьевой воды Новолакского района установлено превышение ПДК свинца – с. Дучи, с. Тухчар и с. Гамиях (от 1,3 до 4,7 ПДК). Также отмечены превышения ПДК кобальта в с. Новолакское, с. Тухчар (от 1,3 до 2,7 ПДК) и никеля – с. Чапаево, с. Тухчар (от 1,21 до 1,6 ПДК).

Таким образом, проведенный анализ качества источников питьевого водоснабжения показал превышение ПДК ряда загрязнителей, имеющих канцерогенный эффект. Однако содержание тяжелых металлов и органических соединений даже в количествах, не превышающих ПДК, может оказывать влияние на здоровье детей, а хроническое поступление малых доз может приводить к эффекту кумуляции в организме человека и к повышению чувствительности мембран и структурных единиц клеток к действию канцерогенных веществ.

Биотехнология очистки сточных вод от соединений азота

Жукова Вероника Сергеевна

(Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт», Киев, Украина, veronika_yv@ukr.net)

Современные требования к качеству очистки сточных вод предусматривают глубокое удаление соединений азота. Их поступление приводит к эвтрофикации поверхностных водоемов. К тому же системы водоснабжения не обустроены сооружениями для удаления соединений азота, поэтому они беспрепятственно попадают к потребителю и приводят к различным заболеваниям.

Цель исследования заключается в интенсификации процесса биологической очистки сточных вод с помощью микроорганизмов, иммобилизованных на капроновых волокнах. Их проводили на лабораторной и полупроизводственной установках, состоящих из пяти биореакторов каждая. Два первых биореактора работают в анаэробном режиме. Циркуляционный насос обеспечивает постоянное перемешивание сточных вод, что позволяет ускорить массообменные процессы и предупреждает образование осадка на дне биореактора. Анаэробный процесс сопровождается выделением газов, которые собирают специальным устройством. Аэробные секции открыты, в них снизу подается воздух от компрессора, который насыщает сточную воду через мелкопузырчатый аэратор.

При выборе эффективного для иммобилизации материала носителя был рассмотрен ряд вариантов. Основными критериями было обеспечить сохранение максимальной биохимической активности микроорганизмов по отношению к сточной воде; большую

удельную поверхность для иммобилизации биомассы; обеспечить закрепление и содержание микроорганизмов на волокнистом носителе. Приведенным критериям отвечает волокнистый текстурованный носитель типа "ВИЯ".

В каждом биореакторе установлен волокнистый носитель "ВИЯ" для иммобилизации микроорганизмов, которые обеспечивают деструкция загрязняющих веществ. Носитель занимает в среднем 0,2 дм³ объема всего биореактора и крепится к специальному каркасу.

Был проведен ряд экспериментов и определены концентрации ХПК (химического потребления кислорода), аммонийного азота, зависших веществ, температуры, pH. Определен видовой состав биоценоза, который свидетельствует об образовании пространный сукцессии микроорганизмов.

Использование анаэробно-аэробной биотехнологии с иммобилизованными микроорганизмами приводит к уменьшению объема сооружений, сокращения длительности очистки сточных вод, уменьшения использования электроэнергии.

Предложенная технология позволяет достичь высокой эффективности (близко 98%) очистки сточных вод от ХСК, зависших веществ и соединений азота. Возможно применение как для хозяйственно-бытовых, так и для промышленных сточных вод.

Неинвазивный мониторинг гормонального статуса амурского тигра в неволе и природе

Иванов Евгений Александрович

(Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН, Россия, Москва, evgivanov@ya.ru)

Амурский тигр (*Panthera tigris altaica*) – уникальный подвид, обитающий в условиях низких температур и высокого снежного покрова. Для сохранения амурского тигра необходимы методы, позволяющие обеспечить эффективную охрану и управления природными популяциями, в том числе выявление факторов, лимитирующих численность и размножение вида.

Концентрация стероидных гормонов в крови является важным физиологическим показателем и позволяет оценить репродуктивный статус животного и уровень его стрессированности. Однако сбор достаточного количества образцов крови в природе чрезвычайно затруднен. В настоящее время для оценки гормонального статуса животных широко применяются неинвазивные методики, позволяющие оценить гормональный статус по концентрации метаболитов в экскрементах животных.

Мы проследили сезонную динамику уровня кортизола в экскрементах 3 самцов и 3 самок амурского тигра, содержащихся в неволе в Волоколамском питомнике Московского зоопарка. Образцы собирали 2–4 раза в месяц от каждого зверя. Образцы из природы были собраны в пяти различных частях ареала амурского тигра в зимний период 2009 и 2010 годов. После сбора образцы замораживали и хранили при температуре -20°C до момента проведения анализа. Экстракцию стероидных гормонов проводили по стандартной методике с использованием 90% метилового спирта. Концентрация стероидов в экстракте определялась методом иммуноферментного анализа с использованием планшетного спектрофотометра Multiscan EX. Для анализа концентраций иммунореактивных веществ (ИРВ), связывающихся с антителами к кортизолу использовали коммерческие наборы компании «Иммунотех» (Москва, Россия).

Для животных из неволи не было отмечено сезонной динамики концентрации кортизола, в то время как у животных из природы отмечалось резкое повышение уровня кортизола в зимний период.

Мы благодарим за помощь в проведении работы сотрудников Волоколамского питомника московского зоопарка и коллектив научно-экспериментальной базы «Черноголовка». Работа выполнена при финансовой поддержке Международного благотворительного фонда «Константиновский», ОАО Акционерной компании по транспорту нефти «Транснефть» и ОАО «Техснабэкспорт».

Получение растений овса для использования в целях фиторемедиации

Карпухова Елена Викторовна

(Московский государственный университет инженерной экологии, факультет экологии и природопользования, Россия, Москва, nimsfeja22@yandex.ru)

Загрязнение почвы тяжелыми металлами – серьёзная экологическая проблема, влияющая на состояние окружающей среды и здоровье человека. Фиторемедиация - один из перспективных путей очищения почв от избыточных масс металлов. Этот путь привлекателен использованием природного процесса биологического круговорота и исключением грубых механических инженерно-мелиоративных мероприятий и какого-либо химического воздействия на почву. По урожаю биомассы и способности накапливать тяжелые металлы подходящим для фиторемедиации растением является овес (*Avena sativa*), неприхотливый и широко распространенный в нашей полосе.

Однако требуется повысить устойчивость овса к тяжелым металлам и увеличить его аккумулирующую способность. Известно, что повышение уровня эндогенного пролина способствует увеличению устойчивости к тяжелым металлам. Для повышения содержания внутриклеточного пролина в растения овса был введен ген пролиндегидрогеназы (*pdh*) в антисмысловой ориентации. Предполагалось, что в трансгенных растениях повысится содержание пролина за счет ингибирования его деградации.

Половинки семян овса с зародышем трансформировали *Agrobacterium tumefaciens*, несущей ген *pdh* в обратной ориентации и селективный ген *nptII*, обеспечивающий устойчивость к антибиотику канамицину. Опыты по трансформации семян овса включали в себя: стерилизацию семян; инкубацию семян в суспензии агробактерии A₂F, несущей ген *pdh*, с добавлением экстракта из растений табака для активации генов вирулентности бактерии; вакуумную обработку; проращивание на среде с антибиотиком. Овес очень чувствителен к токсическому действию агробактерии. Пришлось подбирать концентрацию агробактерии в суспензии. Оптимальной оказалась концентрация 10⁵ КОЕ/мл. При этом процент прорастающих зерен значительно увеличился и составил 40%. После отбора на антибиотике канамидине большинство растений побелели, осталось 12 зеленых растений. После пересадки в почву выжило 3 растения. Методом ПЦР в 2 из них было подтверждено присутствие введенного гена.

Таким образом, в результате проведенных опытов были подобраны условия для агробактериальной трансформации овса и получены перспективные растения, которые в дальнейшем будут исследованы.

Оценка влияния взвешенных веществ на водную среду в зависимости от способа прокладки нефтегазопровода

Кройт Мария Андреевна

(Сахалинский Государственный Университет, Россия, Южно-Сахалинск, Kroit.Mariya@mail.ru)

Инженерные работы по берегам и непосредственно в ложе рек при прокладке трубопроводов неизбежно влекут за собой резкое увеличение твердого стока как непосредственно от проводимых землеройных работ, так и от развития склоновой эрозии. Все это негативно отражается на среде обитания рыб. Существует 2 основных способа прокладки нефтегазопровода (траншейный и наклонно-направленный) и, если избежать данной деятельности нельзя, то можно оценить, какой способ в меньшей степени воздействует на водную среду, и, тем самым, на биоту.

Был произведен сбор проб воды на содержание взвешенных веществ, а также сбор грунта на гранулометрический состав. Определено содержание взвешенных веществ весовым методом, а анализ грунта на гранулометрический состав выполнялся ситовым методом.

Доля мелкодисперстных фракций в реке Ай (траншейный способ) в месте пересечения нефтегазопровода оценена в 15,27 %, а в реке Фирсовка (наклонно-направленный способ) – 8,7%. Таким образом, содержание мелкодисперстной фракции в реке, на которой

нефтегазопровод был проложен способом наклонно-направленного бурения в 2 раза меньше, чем в реке, где нефтегазопровод был проложен траншейным способом.

Главную роль в формировании стока наносов играет склоновая и русловая эрозия. Склоновая эрозия дает в общем балансе наносов основную долю относительно мелких частиц, поэтому чрезвычайно важно при прокладке нефтегазопровода не повредить почвенный покров склона реки. При траншейном способе почвенный покров поврежден, глинистые частицы вынесены на поверхность, т.о. при осадках вода не проникает в почву, а происходит её смыв вместе с илстыми частицами. При наклонно-направленном способе прокладки нефтегазопровода почвенный покров склона не повреждается и смыва глинистых частиц не происходит.

Правильный выбор способа прокладки нефтегазопровода позволит минимизировать негативное влияние на ценные в рыбохозяйственном отношении водотоки Сахалинской области и предотвратить активизацию эрозионных процессов.

Проблемы загрязнения атмосферного воздуха городов

Кузнецов Константин Андреевич

(Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, Экологический факультет, Украина, Харьков, somraven@rambler.ru)

Одними из наиболее опасных поллютантов являются тяжёлые металлы. Особенность их токсического воздействия заключается в длительном периоде их выведения из организма, а также в проявлении токсичных свойств при малых дозах. Организм человека, ослабленный имеющимися нарушениями (болезнью или травмой) особенно уязвим к токсическому воздействию тяжёлых металлов. Поэтому проблема загрязнения атмосферы приобретает повышенную значимость в случае с воздухом на территории медицинских учреждений, расположенных в крупных городах.

Образцы атмосферной пыли отбирались на территории 2 медицинских учреждений г. Харькова – центральной клинической больницы (ЦКБ) №5 и городской клинической больницы (ГКБ) №2 при помощи электроаспиратора 822-й модели с фильтрами АФА-ХА в 2 этапа – на протяжении 2-х недель в начале и в конце летнего периода 2010 года. Выбранные медицинские учреждения различались по уровню техногенной нагрузки на них: в радиусе 1 км от ЦКБ №5 находится одна автомагистраль, тогда как возле ГКБ №2 – 6 источников загрязнения (4 точечных и 2 линейных). Химический анализ образцов атмосферной пыли проводился с целью определения концентрации 9-ти тяжёлых металлов (Fe, Mn, Zn, Cu, Ni, Pb, Co, Cr, Cd) с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра 115-ПК и полирографа ПО-1 с ртутным электродом сравнения.

Результаты первого этапа исследований показали превышение среднесуточной ПДК по Mn на территории ГКБ №2 в 2 раза. Концентрации всех остальных исследуемых химических элементов не превышали нормативные значения. По данным второго этапа отбора проб, превышение значений ПДК по Mn наблюдалось уже на территории обоих медицинских учреждений: на территории ЦКБ №5 превышение составило 1,3 раза, на территории ГКБ №2 – более чем в 3 раза.

Таким образом, установленный факт превышения значений ПДК по Mn на территории медицинских учреждений в различной степени подвергающиеся техногенной нагрузке требует дальнейших исследований, которые будут включать определение конкретных источников поступления Mn в атмосферный воздух.

Содержание тяжелых металлов в органах и тканях рыб реки Яхрома

Логачёв Алексей Андреевич

(Казанский физико-технического институт КНЦ РАН, Отдел медицинской физики, Россия, Казань, golovtchenkoan@mail.ru)

В работе представлены результаты исследования, проведенные в 2009 г., по содержанию тяжелых металлов (Cu, Cd, Ni, Pb и Zn) в органах и тканях разных видов рыб (карась и окунь), обитающих в реке Яхрома.

Содержание меди во всех органах обоих видов рыб превышало ПДК_{сан}, за исключением печени окуня. Самые большие превышения по этому металлу наблюдалось в жабрах карася и половых продуктах окуня. По сравнению со всеми исследуемыми органами и тканями, печень содержит самые небольшие концентрации меди, хотя содержание этого металла в печени карася несколько превышает ПДК.

Содержание кадмия во всех органах и тканях окуня не превышает ПДК. Концентрация этого металла в карасе превышает ПДК во всех исследуемых органах и тканях, за исключением печени. Наибольшие превышения ПДК наблюдаются в мышцах и половых продуктах карася и составляют 37 и 76 ПДК соответственно.

Содержание никеля во всех органах обоих видов рыб превышало ПДК, за исключением мышц окуня. Самые значительные превышения ПДК наблюдались у карася: жабры - 69 ПДК, печень - 70 ПДК, мышцы - 58 ПДК, половые продукты - 65 ПДК.

Концентрации свинца у карася превышали ПДК во всех исследуемых органах и тканях. Концентрации этого металла в органах и тканях окуня не превышало ПДК в жабрах и печени.

Содержание цинка во всех органах обоих видов рыб превышало ПДК. Самые большие превышения ПДК наблюдались у окуня, особенно в жабрах и половых продуктах (15 и 10 ПДК соответственно). У карася также самые большие концентрации цинка наблюдались в жабрах и половых продуктах (3 и 2 ПДК соответственно).

Филогенетический анализ последовательностей гена *12S rPHK* индикаторных зоопланктонных организмов

Ломаев Дмитрий Васильевич

(Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Казань, tau171@rambler.ru)

Определение организмов-индикаторов, обитающих в данном водоёме, является одним из важных методов оценки степени загрязнённости водного объекта.

Целью нашей работы является филогенетический анализ последовательности гена *12S rPHK* индикаторных зоопланктонных организмов и оценка целесообразности его использования в качестве маркерного гена для выявления индикаторных видов.

Материалом для анализа послужил список индикаторных видов зоопланктонных организмов из работы Макрушина А.В. «Биологический анализ качества вод, для обработки последовательностей гена организмов использованы стандартные методы биоинформатики. Нами были проанализированы филогенетические деревья, сконструированные по последовательностям митохондриального гена *12S rPHK* с помощью методов максимальной экономии (29 организмов) и ближайших соседей (25 организмов). У рассмотренных организмов данный ген отвечает за синтез рибосом митохондрий. Сравнительный анализ деревьев, построенных этими методами, показал наличие 2 идентичных для обоих деревьев кластеров. Организмы, входящие в каждый отдельный кластер, имеют идентичные и близкие степени сапробности.

Филогенетический анализ гена *12S rPHK* индикаторных зоопланктонных организмов наряду с анализом степеней их сапробности показали целесообразность использования данного гена как маркерного. Подтверждено корректное использование видов *Plumatella repens*, *Plumatella fungosa* как индикаторов *b*-мезосапробной зоны водоемов и *Tubifex Tubifex*, *Limnodrilus hoffmeisteri* как индикаторов *полисапробной* и *a*-мезосапробной зоны водоемов.

Современное экологическое состояние водоемов урбанизированных районов Дагестана

Магомедова Марьям Гаджимурадовна, Сулейманова А.М.

(Дагестанский государственный университет, Эколого-географический факультет, Россия, Махачкала, mag.mario@yandex.ru)

Целью данной работы является изучение современного экологического состояния озер Ак-Гель и Большое Турали, расположенных в наиболее урбанизированных районах Республики Дагестан в черте городов Махачкала и Каспийск.

Наблюдения проводились в 2009-2010 г.г. в соответствии с Руководящим документом по определению качества поверхностных вод. В результате проведенных исследований нами были получены массив данных, который был статистически обработан. В работе приведены средние значения в сравнении с нормативами. Озеро Ак-Гель: запах - 5 баллов (норма - не более 2); окраска 5 см (не должна обнаруживаться в столбике 10 см); растворенный кислород 12,25 мг/л (не менее 4 мг/л); реакция pH 7,8 (не должна выходить за пределы 8,5 pH); содержание нитратов 0,064 мг/л (не более 0,02); фосфаты 0,129 мг/л (не более 0,2); аммонийный азот 0,081 (не должно превышать 0,4). Озеро Большое Турали: запах - 4 балла; окраска 7,5 см; растворенный кислород 11,44 мг/л; pH - 8,2; нитраты - 0,013 мг/л; фосфаты - 0,086 мг/л; аммонийный азот - 0,07 мг/л.

При анализе данных установлено, что оба водоема загрязнены. Трофическое состояние оз. Ак-Гель приближается к гипертрофному, оз. Большое Турали - эвтрофное. Оз. Ак-Гель перенасыщено биогенными веществами из-за поступления богатых органикой бытовых сточных вод даже в зимние месяцы.

Для снижения антропогенной нагрузки на данные водоемы мы рекомендуем следующие водоохранные мероприятия: использовать коллекторы городской канализационной сети, ликвидировать свалки бытового мусора с прилегающих к водоемам территорий, рекультивировать освободившиеся площади, создать вокруг водоемов водоохранные зоны и прибрежные защитные полосы.

Влияние загрязнения почв г. Ростова-на-Дону на антагонистическую активность почвенных актиномицетов

Мазанко Мария Сергеевна

(Южный Федеральный Университет, Биолого-почвенный факультет, Россия, Ростов-на-Дону, Mary.bio@list.ru)

Актиномицеты – широко распространённая группа почвенных микроорганизмов, обладающая уникальными особенностями метаболизма, такими, как способность к деградации сложных органических веществ и ксенобиотиков, а также способность вырабатывать широкий спектр антибиотических веществ. Поэтому важно изучить влияние почвенного загрязнения на функциональные способности актиномицетов, в частности, на их антагонистическую активность.

Объектом исследований являлись 5 видов актиномицетов, выделенных из почв г. Ростова-на-Дону с разным уровнем загрязнения: *Streptomyces omiyaensis*, *St. cirratus*, *St. griseolus*, *St. rimosus*, *St. alboflavus*. Бактериями-антагонистами были выбраны 3 вида бактерий, выделенных из тех же почв: *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas aureofaciens*. В качестве питательной среды был выбран почвенный агар, как среда, максимально приближенная по составу к почвенному раствору. Было приготовлено 4 вида среды, в основе каждой лежала почва из зоны города с различным уровнем загрязнения – жилой (жилые районы), рекреационной (парки, скверы), промышленной (санитарные зоны предприятий), зоны максимального загрязнения (зоны вдоль автотрасс). В качестве метода был использован штриховой метод.

Наши данные показывают, что присутствующие в почве загрязнения вещества негативно влияли на способность актиномицетов к проявлению антагонизма. Во всех случаях и у всех видов актиномицетов величина средней зоны отсутствия роста снижалась с увеличением загрязнённости почвы, взятой за основу при приготовлении питательной среды.

Чувствительность актиномицетов к почвенному загрязнению может негативно сказаться на функционировании микробных сообществ в загрязнённых почвах.

Применение методов лишеноиндикации в экологическом мониторинге курортного региона

Мандра Юлия Александровна

(ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет», Россия, Ставрополь, yuam2007@yandex.ru)

Цель исследований: апробация использования лишайников для экологически значимой оценки состояния среды г. Кисловодска и обоснование использования полученных данных при планировании развития курорта.

Методика: на 30-ти базовых площадках города Кисловодска, выбранных по принципу равномерно-рассыпанного расположения, в 2007-2009 гг. проведена лишеноиндикация по Трассу, 1987. Определялись показатели индекса полеотолерантности лишайников. На основе полученных данных проведено экологическое зонирование территории курорта.

Результаты исследований: на территории Кисловодска выявлено 30 видов лишайников, из них 22 вида – эпифиты, 5 – эпилиты и 3 – напочвенные. Кроме того, 43 % - листоватые лишайники, 30 % - накипные. 27 % - кустистые.

Значение индекса полеотолерантности (IP) на пробных площадках колеблется от 3,35 (площадка №30 – контроль) до 5,35 (площадка № 20 – железнодорожный вокзал). Коэффициент вариации IP составляет 18,03%, что указывает на экологическую неоднородность среды. На этом основании выделены участки, соответствующие двум зонам загрязнения. Первая ($3,35 < IP < 4,96$) – зона слабого загрязнения; вторая ($4,96 < IP < 5,35$) – среднего.

Однако следует отметить, что выше упомянутая шкала была разработана для техногенно-нарушенных территорий, что осложняет ее применение на более «чистых» участках. В этой связи мы провели зонирование курортной территории, используя статистический подход: определили медиану для показателей индекса полеотолерантности (IP) в первой зоне загрязнения. В результате этого на территории Кисловодска выделены участки, относящиеся к трем «зонам благополучия»: условно чистая, переходная, условно загрязненная.

Вывод: лишайники являются методически удобными фитоиндикаторами в условиях курортно-рекреационной территории, а лишеноиндикационные методы позволяют дать комплексную оценку состояния экосистем города-курорта Кисловодск.

Предложения:

1. Принять оперативные меры по оздоровлению среды на участках условно загрязненной зоны;
2. Принять тактические меры по сохранению и улучшению качества среды на участках переходной и условно чистой зон.
3. Периодически (1 раз в 3 года) вести лишеноиндикационные наблюдения; о полученных результатах сообщать в администрацию города-курорта Кисловодск

Пространственно-временная динамика тяжелых металлов в экосистеме р.Яхрома

Маслова Ольга Анатольевна

(Дмитровский филиал Астраханского государственного технического университета, факультет Аквакультуры и Экологии, Россия, Дмитров, SvobodniiPolet@yandex.ru)

Загрязнение ионами тяжелых металлов является одним из значимых показателей токсикологического состояния водоема.

В данной работе представлены результаты исследования загрязненности воды и донных отложений р. Яхрома ионами тяжелых металлов. Исследованиями были охвачены участки русла реки от истока до устья, анализ образцов проводился на атомно-абсорбционном спектрофотометре «КВАНТ-2А».

Результаты анализов содержания ионов тяжелых металлов в воде и донных отложениях показывают достаточно пеструю картину пространственного распределения в р. Яхроме.

Содержание кадмия в воде и донных отложениях в весенне-летний период практически на всем протяжении реки не превышало ПДК и только в устьевой части отмечалось резкое возрастание его концентрации в воде до 4 ПДК, причина чего осталась не выясненной. Превышения ПДК свинца, меди, цинка и никеля в воде на большинстве участков реки отмечались весной и практически на всех станциях. В летний период значимое превышение ПДК по свинцу, меди и никелю отмечалось в воде на участке реки в пределах влияния городов Яхрома и Дмитров.

В донных отложениях р. Яхрома концентрация ионов тяжелых металлов на порядок и более превышает их концентрацию в воде, но, как правило, не превышает ОДК. Обратная зависимость прослеживается между концентрацией тяжелых металлов в донных отложениях и скоростью течения реки. Исключение составляет только участки реки в пределах городов Яхрома и Дмитров и мелиорированной части поймы, что связано с повышенной антропогенной нагрузкой.

Таким образом, в результате исследований выяснено, что повышенные концентрации тяжелых металлов приурочены к участкам реки, находящимся в непосредственной близости от автодорог или агроценозов, преимущественным источником тяжелых металлов в р. Яхрома являются талые воды, поступающие с водосбора, также выявлена тенденция накопления тяжелых металлов в донных отложениях р.Яхрома.

Результаты токсикологической оценки экосистемы р. Яхрома дают основание считать ее экологическое состояние неблагополучным.

Санитарно-гигиеническое состояние городских лесов г. Томска

Мясников Алексей Геннадьевич, Данченко М.А.

*(Биологический институт НИИ Томского государственного университета, Россия,
Томск, proforgbpf@mail.ru)*

Изучение экологической ситуации в городах - приоритетное направление исследований окружающей среды. В процессе становления города постепенно происходит деградация его природной экосистемы и на ее месте формируется совершенно новая антропогенная система (урбоэкосистема), для которой характерны специфические черты.

Целью работы было изучить санитарно-гигиеническое состояние древесных насаждений городских лесов г. Томска. Объектами были естественные ненарушенные и естественные нарушенные серые лесные почвы и древесные породы: сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris*), лиственница сибирская (*Larix sibirica*), ели сибирской (*Picea obovata*), пихты сибирской (*Abies sibirica*) береза повислая (*Betula pendula*). Оценка состояния почвенного покрова производилась по параметрам лесной подстилки и верхних горизонтов.

Основное негативное воздействие на экологию и санитарно-гигиеническое состояние городских лесов оказывают промышленные и энергетические предприятия гг.Томска и Северска. Развитие предприятий нефтехимической промышленности загрязняет воздух формальдегидами, фенолом, сажей, метанолом и аммиаком. Кроме негативных воздействий промышленных предприятий и автотранспорта, городские леса загрязняются свалками строительных и бытовых отходов. Отмечена гибель лесной растительности от нарушения поверхностного и внутреннего стока, распространения насекомых-вредителей леса и грибковых болезней. Особенно ясно это выражено вблизи загрязняющих предприятий.

Санитарно-гигиеническое состояние насаждений, расположенных в непосредственной близости от городской застройки нарушается чрезмерной рекреационной нагрузкой, выражается нарушением напочвенного покрова, уплотнением почвы, отсутствием подроста и подлеска. Ухудшается рост и усиливается отпад деревьев, территория становится малопривлекательной для отдыха. Кроме отрицательного антропогенного влияния около 20% городских лесов поражено грибными болезнями – настоящим и сложным трутовиками.

Максимально поражены насаждения пихты (39,8%), осины (31%) и березы 21,3%). Достаточно часто трутовиками повреждается ель (15,3%), реже сосна (2,7%) и древовидные ивы (0,6%). Не выявлено поражений трутовиками лиственницы и сибирского кедра.

Кислотная устойчивость эритроцитов сеголеток карпа при комплексном влиянии ионов Pb^{2+} , Cd^{2+} и Mn^{2+}

Раджаббадиев Раджаб Магомедович

(ГОУ ВПО «Дагестанский Государственный Университет»), Биологический факультет, Россия, Махачкала, zigi1856@rambler.ru)

Тяжелые металлы относятся к наиболее опасным ксенобиотикам, способным нарушить структурную целостность мембран, привести к их деформациям, лизису клетки и ее гибели. В этой связи изучено комплексное действие ионов свинца, кадмия и марганца на кислотную резистентность эритроцитов сеголеток карпа.

Объектом исследования являлись сеголетки обоего пола карпа. Испытано влияние смеси ионов кадмия ($0,05 \text{ мг/дм}^3$), свинца (1 мг/дм^3) и марганца ($0,1 \text{ мг/дм}^3$) в течение 15 суток. В крови исследовали устойчивость эритроцитов к действию гемолизика ($0,004N \text{ HCl}$) на 5 и 15 дни опыта.

При интоксикации рыб смесью тяжелых металлов выживаемость рыб составила 15 суток. Эритрограмма контрольных рыб имеет одну вершину с максимумом на 1,5 мин. В этой точке гемолизует 30,7% эритроцитов. Продолжительность гемолиза составляет 6,5 мин. В крови у контрольных рыб наиболее многочисленной является среднестойкая популяция эритроцитов (58,8%). На долю низко- и высокостойких эритроцитов приходится 0,2 и 37,8% соответственно.

Пребывание рыб в среде со смесью ионов трех металлов в течение 5 суток привело к сдвигу эритрограммы влево к 0,5 мин и повышению доли эритроцитов, подвергшихся гемолизу на пике эритрограммы, до 76%. Эритрограмма имеет небольшой дополнительный пик на 2,5 мин. Продолжительность кислотного гемолиза сокращена до 5,5 мин. В этот период отмечается преобладание низкостойких (88%) эритроцитов. Доля высоко- и среднестойких эритроцитов снижается до 9,3% и 0,8% соответственно.

Кислотная эритрограмма сеголеток карпа, подвергшихся воздействию ионов свинца в течение 15 суток, характеризуется почти полным разрушением эритроцитов (95%) на 0,5 мин, значительным сокращением времени гемолиза (2 мин) и преобладанием низкостойких эритроцитов. Результаты свидетельствуют о значительных качественных изменениях эритроцитарных мембран при комплексном воздействии ионов тяжелых металлов.

К вопросу об изучении процессов эвтрофирования озера Адж

Расулова Маржана Магомедовна

(«Дагестанский государственный университет»), Россия, Махачкала, zhuka-86@mail.ru)

Эвтрофирование малых водоемов происходит гораздо быстрее, чем аналогичные процессы в больших, глубоких, стратифицированных озерах и значительно ускоряется при негативном антропогенном влиянии. К тому же процессы эвтрофирования существенно зависят от индивидуальных особенностей водоема. Здесь должны учитываться морфометрические характеристики, интенсивность перемешивания водных масс, влияние водосбора, климатические условия и др. Учитывая вышесказанное, с 11 октября 2009 года по настоящее время проводятся измерения гидрохимических и гидрологических параметров водоемов Приморской низменности Дагестана с целью изучения процессов их эвтрофирования с учетом индивидуальных озёр.

Озеро Аджи расположено в Каякентском районе в 14 км от берега Каспийского моря и в 3 км от линии железной дороги. Его максимальная глубина - 1,0-1,5 м, площадь 5,2 км². Озеро засолено и поэтому растительность в нем не развита. До недавнего времени летом оно почти полностью пересыхало и превращалось в мощный солончак. После построения оросительного канала, втекающего в водоем, пересыхания уже не происходит. Озеро представляет собой остаток лагуны, отделившийся от Каспийского моря, и является охотничьим угодьем.

В ходе исследований получен большой объем данных, который затем был систематизирован, обработан и интерпретирован. Было выяснено, что наибольшее влияние на изменении трофического статуса оз. Аджи оказывали гидробиологические процессы, которые активизировались с увеличением температуры. Такая ситуация возникает

вследствие весьма незначительной глубины водоема, благодаря чему происходит интенсивное прогревание воды по всей глубине летом и ее промерзание – зимой. Т.о. в холодное время года озеро можно было отнести к мезотрофным, а в летнее оно достигало гипертрофного состояния.

Использование морфологических показателей серебрянного карася в биоиндикационных исследованиях

Романова Елена Владимировна, Спирина Е.В.

(Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия», Россия, Ульяновск, alena_romanova92@mail.ru)

Морфологические признаки животных формируются в значительной степени под влиянием окружающей среды, следовательно, средние величины этих признаков могут служить надёжными маркерами происходящих негативных изменений в среде обитания. Основной целью исследования являлось - оценить возможность использования морфологических показателей серебрянного карася *C. auratus gibelio* в биоиндикационных исследованиях.

Материал для данной работы был собран в течение летних месяцев 2008-20010 гг. Было изучено девять популяций карася серебрянного. При изучении популяций серебрянного карася использовались двадцать один параметр. Из всего многообразия морфологических и морфофункциональных признаков, которые можно использовать в качестве индикаторов, прежде всего, целесообразнее использовать размеры тела карасей. Длина тела карасей в исследуемых водоемах различаются. Самые крупные караси обитают в пруду с. Молвино, «Белое озеро», самые мелкие в пруду р.п. Тереньга ($p > 0,05$).

Сравнение длины тела по Смитту показало наличие четких различий между карасями из экологически чистых водоемов (пруд с. Молвино, «Белое озеро») и антропогенно-трансформированных водоемов (пруд р.п. Тереньга, пруд «Паника», р. Золотая, озеро «Татурайкино»), наблюдается тенденция увеличения данного параметра у карасей экологически чистых водоемов.

Морфологические признаки серебрянного карася подвержены значительным изменениям в зависимости от условий обитания. Под воздействием экологических факторов (температуры, химического состава воды, кормовых условий, пресса хищников и др.) могут происходить изменения пластических признаков. Так, например, под воздействием пресса хищников у серебрянного карася увеличивается высота тела, что может служить морфологической защитой против выедания.

Обобщая все выше сказанное, мы пришли к уже известным выводам о том, что размеры морфологических признаков формируются в значительной степени под влиянием окружающей среды, и поэтому, средние величины многих признаков могут служить надёжными маркерами происходящих негативных изменений в среде обитания карасей.

Таким образом, средние значения морфометрических параметров и коэффициенты их вариации могут успешно использоваться в целях биоиндикации.

Изучение механизма аккумуляции кадмия водными растениями в условиях естественной гидрэкосистемы

Романова Тамара Евгеньевна

(Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, romanovata@mail.ru)

В связи с проблемой загрязнения окружающей среды продуктами техногенеза объектом пристального внимания исследователей являются тяжелые металлы. В этой связи разработка технологий очистки от них природных сред имеет приоритетный характер, а фиторемедиация водоемов - один из наиболее предпочтительных с точки зрения экологичности, экономичности и простоты реализации.

Работа посвящена изучению механизма аккумуляции кадмия водяным гиацинтом растениями *Eichhornia crassipes* и пистией слоистой *Pistia stratiotes* в условиях естественной гидрэкосистемы. Были использованы следующие методы: инверсионная вольтамперметрия

и атомно-эмиссионная спектроскопия с индуктивно связанной плазмой (для определения остаточной концентрации Cd в воде и содержания поллютанта в растениях); гистохимический метод, основанный на качественной реакции комплексообразования Cd с дитизином (для изучения распределения Cd в различных тканях растений); метод капиллярного электрофореза (для выявления соединений, участвующих в связывании кадмия в растениях).

Установлено, что при прочих равных условиях водяной гиацинт эффективнее аккумулирует кадмий. При исходной концентрации поллютанта 100 мкг/л концентрация кадмия в корнях и листьях водяного гиацинта составила соответственно 350 и 30 мг/кг сухой массы, пистии слоистой – 200 и 20 мг/кг (усредненные данные, длительность эксперимента 6 суток). Изучено влияние дробного режима добавки на поглощение поллютанта, проведены корреляции между вводимой концентрацией Cd, суммарной дозой металла, находящегося в миникосме, и концентрацией, найденной в растениях.

Показана применимость гистохимического метода с использованием дитизиона для исследования распределения кадмия в тканях водных растений. Установлено, что как в водном гиацинте, так и в пистии Cd аккумулируется в основном в корне и локализуется в ризодерме и первичной коре. Проведено сравнение характера распределения кадмия в органах растений в зависимости от концентрации, дозы и времени воздействия.

Установлено, что в изучаемых растениях содержатся вещества полифенольной природы, способные образовывать комплексные соединения с Cd (рутин и кверцетин). Качественный и количественный состав флавоноидов видоспецифичен, в пистии превалирует рутин, а в гиацинте – кверцетин.

Гидрохимическая характеристика озерных вод г. Якутска

Руфова Алёна Афанасьевна

*(Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Биолого-
Географический факультет, Россия, Якутск, alenaruf@inbox.ru)*

Были исследованы крупные озера г. Якутска (Сергелях, Сайсар, Ытык-Кюель, Белое, Хатынг-Юрях). К основным природным факторам, формирующим химический состав поверхностных вод озер г. Якутска следует отнести атмосферные воды, почвенный покров, подземные и талые наледные воды. В анионном составе этих вод преобладают ионы HCO_3^- , в катионном составе – ионы магния, натрия и кальция.

Также существенную роль играет антропогенный пресс. На территории городской зоны преобладают озера с малой минерализации, в озере Сергелях слабоминерализованные воды и в Белом озере средне минерализованные воды. Большинство изученных озерных вод имеют слабощелочную среду. В изученных нами озерных водах преобладают умеренно-жесткие воды (до 6 мг-экв/л), также встречаются водоемы с мягкими водами (Сергелях). По микроэлементному составу элементы второго (Cd) и третьего (Ni, Co, Cr) класса опасности находятся ниже предела обнаружения. Из элементов второго класса опасности в некоторых исследованных озерах (Сергелях, Сайсары) встречается только РЬ, но его содержание ниже ПДК. Содержание магния и меди существенно выше ПДКвр. На озере Сайсар наблюдается очень высокое содержание Zn, превышающее ПДКвр в десять раз.

Для выявления основных факторов, влияющих на химический состав озерных вод исследованы основные гидрохимические показатели по типам происхождения озер. Гидрохимический режим водно-эрозионных озер тесно связан с природными особенностями бассейнов речных систем, в пределах которых расположены. По основным типологическим показателям они четко отличаются от озер других морфогенетических типов, их состав в основном гидрокарбонатно-магниевого.

Для улучшения качества озерных вод необходимо проведение ряда мероприятий: 1. Соблюдение режима водоохраных зон; 2. Решение проблемы водоподготовки и очистки питьевых озерных вод; 3. Очистка поступающих хозяйственно-бытовых сточных вод; 4. Восстановление экосистем деградированных водоемов; 5. Поддержание проточности озер, путем очищения акватории от водной растительности для увеличения продуктивности водных экосистем.

Филогенетический анализ гена *16S рPHK* митохондрий индикаторных видов фитопланктонных организмов

Сабиров Марат Садекович

(Казанский Федеральный Университет, биолого-почвенный факультет, Россия, Казань, greencapers@yandex.ru)

Острой проблемой больших городов и промышленных районов является нестабильное состояние искусственных и естественных водоемов. В связи с этим необходимо применять меры по своевременной оценке состояния водоёма. Мониторинг водных объектов принято проводить с помощью продолжительного исследования индикаторных видов. Однако не все индикаторные виды однозначно интерпретируются различными исследователями. Филогенетический анализ позволяет выявить эволюционные закономерности в распределении индикаторных видов в кластеры. Анализ кластеров показывает возможность применения современных подходов биоинформатики и молекулярной генетики для нахождения новых индикаторных видов и подтверждения корректности использования существующих.

Целью данной работы является филогенетический анализ индикаторных видов фитопланктонных организмов по гену хлоропластов *16S рPHK*, а также оценка возможности использования его в качестве маркерного гена для выявления новых индикаторных видов. База данных индикаторных видов фитопланктона основана на списке видов из работы Макрушина А.В. "Биологический анализ качества вод". Поиск нуклеотидных последовательностей фитопланктона проводился с использованием международной базы данных GenBank. Выравнивание последовательностей выполнено в программе ClustalW2. Филогенетические деревья сконструированы с помощью пакета программ PHYLIP.

По гену *16S рPHK*, отвечающего за синтез митохондриальных рибосом, сконструированы филогенетические деревья методами максимальной экономии (31 организм) и ближайших соседей (31 организм).

Сравнительный анализ построенных деревьев показал наличие пяти гомологичных кластеров с бутстреп-поддержкой более 75.0. В кластере №5 сгруппировались организмы с разными индексами сапробности. Внутри же остальных объединились организмы близких зон сапробности.

Филогенетический анализ по гену *16S рPHK* для оценки сапробности водоемов показал корректное использование индикаторных видов: *Melosira varians*, *Amphora ovalis*, *Cymatopleura solea*, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis flos-aquae*, *Anabaena flos-aquae*, *Anabaena spiroides* - для олигосапробной и б-мезосапробной зон;

Выражаю искреннюю благодарность моему научному руководителю, к.т.н., доц.каф.генетики КФУ Фроловой Л.Л.

Содержание микроэлементов в дикорастущих растениях Татарстана на незагрязненной территории

Сибгатуллина Мадина Шавкатовна

(ГБУ Институт проблем экологии и недропользования АН РТ, Россия, Казань, sibmad@list.ru)

Важным моментом охраны окружающей среды от химического загрязнения является знание фонового содержания микроэлементов в дикорастущих растениях, произрастающих в различных ландшафтно-геохимических условиях незагрязненных территорий. В связи с этим целью работы было определение фонового содержания микроэлементов в травянистых растениях лесных фитоценозов на незагрязненной дерново-подзолистой почве.

Для реализации поставленной цели в июле 2009 г. были отобраны 40 проб растений и 40 проб почвы в лесных фитоценозах Волжско-Камского государственного природного биосферного заповедника. Содержание Mn, Fe, Zn, Cu, Co, Cr, Ni, Cd, Pb в исследованных образцах анализировали атомно-абсорбционным методом на спектрофотометре фирмы Perkin Elmer.

В результате исследования установлены биогеохимические особенности ряда видов

травянистых растений в зависимости от их систематического положения, органоспецифичности, особенностей физико-химических свойств почвы, фитоценоза. Так, например, высоким содержанием Mn отличаются растения черники и костяники. А низким – щитовник мужской, орляк обыкновенный и кочедыжник женский. Обнаружена высокая аккумуляционная способность мхов рода *Pleurozium* Mitt. и *Sphagnum* L. в отношении Mn, Fe, Pb и Co, что дополняет аналогичную информацию о мхах, полученную ранее рядом других исследователей. Высокая аккумуляционная способность мхов объясняется тем, что мхи, как эволюционно более древняя группа растений, лишённая корней, проводящих, механических, запасающих, покровных тканей и возможности обновлять фотосинтезирующие органы, поглощает ионы металлов всей поверхностью тела.

Обнаружено, что региональный фон микроэлементов в травянистых растениях практически не выходит за пределы среднепланетарных значений. Исследованные виды отличаются средней обеспеченностью микроэлементами. Установлен диапазон фоновых концентраций исследованных микроэлементов в травянистых растениях, произрастающих на незагрязнённой дерново-подзолистой почве (мг/кг): Mn – 30-358, Fe – 66-190, Zn – 10-80, Cu – 2.5-11, Ni – 1.0-6.0, Cd – 0.04-0.4, Pb – 0.5-2.1, Cr – 0.2-0.5, Co – 0.2-0.7.

Автор выражает благодарность заведующему лабораторией биогеохимии к.б.н. Иванову Д.В. за предоставленную возможность выполнения работы.

Оценка экологичности производства на предприятии

Сорока Елена Александровна

(Ростовский Государственный Строительный Университет, Институт инженерно-экологических систем, Россия, Ростов-на-Дону, alenka_71_@mail.ru)

Антропогенные воздействия на биосферу многообразны и в последние годы приближаются к критическому допустимому. Среди них особо негативны воздействия на атмосферу: выбросы многообразных антропогенных веществ и других видов загрязнений; выбросы тепла, влияющие на нагрев атмосферы и изменение ее радиационных параметров, в особенности приземных слоев, в которых существуют люди, животные, растения.

При выполнении научной работы использовался проект нормативов выбросов загрязняющих веществ в атмосферу для предприятия ООО «ЗСБ «Армакс-Юг», расположенного в г. Азове Ростовской области.

Цели данного исследования: определение класса и категории опасности предприятия, определение санитарно-защитной зоны (СЗЗ). Промышленное предприятие ООО «ЗСБ «Армакс-Юг» является производителем сэндвич-панелей. В выбросах предприятия обнаружено 9 загрязняющих атмосферный воздух веществ, различного агрегатного состояния: газы (метилендифенилизоциант, трихлорэтилфосфат, углерода оксид, азота диоксид, серы диоксид.), твердые вещества (сажа).

Класс опасности, категория предприятия, санитарно-защитная зона определялись в соответствии с нормативными документами (СанПиН 2.2.1/2.1.1.1200-03 и ОНД 1-84). Корректировка СЗЗ по розе ветров проводится по формуле: $l = l_0 \cdot P/P_0$, м, где l – скорректированная величина СЗЗ в каждом из 8 направлений, м; l_0 – нормативная величина СЗЗ, м; P – среднегодовая повторяемость направления ветра одного ромба, %; P_0 – повторяемость направлений ветра для одного ромба при условии одинакового процента

В результате исследования установлено, что предприятие ООО «ЗСБ «Армакс-Юг» имеет IV класс и 4 категорию опасности. Произведена корректировка санитарно-защитной зоны для предприятия. Определена санитарно-защитная зона в соответствии с нормативной документацией (100м), которая не соответствует рассчитанной СЗЗ с учетом розы ветров. Предприятию необходимо пересмотреть площадь СЗЗ или установить современные воздухоочистители.

Способы экологизации экономики Московской области

Спицына Мария Николаевна

*(Международный Университет природы, общества и человека «Дубна»,
кафедра устойчивого инновационного развития, Россия, Дубна, mnspicyna@msil.ru)*

Противоречивые тенденции все большей «экономизации» нашего общества при одновременной его «деэкологизации» делает экономические механизмы важнейшим оружием защиты природы в условиях трансформации и перехода нашей экономики к рыночной. Поэтому возрастание экономической ценности природного богатства, включая здоровье среды, должно стать той точкой опоры, на основе которой можно было бы перевернуть антиэкологичную экономику, сделать ее устойчивой.

Основными способами экономического регулирования экологической деятельности является экологическое нормирование, которое включает в себя: нормирование выбросов веществ в атмосферный воздух, нормирование сбросов в водные объекты, нормирование производственных лимитов на накопление отходов; нормирование в областях экологической сертификации, экологического аудита, экологического менеджмента.

Нормирование выбросов по факту происходит благодаря составлению предприятиями проектной документации: ОВОС (оценка воздействия на окружающую среду), ООС (охрана окружающей среды); ПДВ (проекта предельно-допустимых выбросов), ПДС (проекта предельно-допустимого сброса), ПНООЛР (проекта нормативов образования отходов и лимитов на их размещение), и СЗЗ (проекта санитарно-защитной зоны).

Рассмотрим способы экологизации экономики:

1) экологическая сертификация требуется для проверки на достоверность предоставленных природопользователем сведений, которые необходимы для ведения государственного кадастра отходов. По итогам проведенной экологической сертификации выдается сертификат соответствия установленного образца, который подтверждает, что на предприятии соблюдаются все требования по повышению экологической безопасности.

2) экологический аудит – это комплексная проверка предприятия на предмет соответствия его деятельности существующим нормативам в области охраны окружающей среды. Проведение экоаудита предприятия предполагает комплексные рекомендации по преобразованию всей хозяйственной деятельности к существующим нормативным показателям.

3) экологический менеджмент – это управление природоохранной и природопользовательной деятельностью в частности: правовой и экономической механизмы охраны природы; система государственных и региональных органов управления; деятельность руководителей и специалистов предприятий по охране окружающей среды и рациональному использованию природных ресурсов. Все три способа экологизации экономики Московской области необходимо постепенно внедрять в повседневную работу эколога на предприятиях. Экологический консалтинг, как способ экологизации экономики, будет развиваться в России в ближайшие годы.

Деструкция нефтяных углеводородов биопрепаратами в зависимости от типов почв и различного уровня загрязнения нефтью и нефтепродуктами

Суюнова Аягоз Бактжанова, Парамонова И.Е., Балпанов Д.С.

*(ТОО «Научно – аналитический центр «Биомедпрепарат», Казахстан, Степногорск,
biomedpreparat@bk.kz)*

Исследована деструкция нефти, бензина, дизельного топлива и мазута биопрепаратами на разных типах почв *in vitro*.

В опытах использовали почву: темно-каштановую Акмолинской области, песчаную Акмолинской области, песчаную Мангыстауской области, солончаковую Акмолинской области; биопрепараты: «Экобак», «Препарат №1» (произведены в РК), «Микрозим® Петро Трит» (произведен в РФ), а также бензин марки Аи-96, Аи-80 в концентрации 7%, нефть месторождения «Узень» и дизельное топливо летнее в концентрациях 7 и 15%, мазут в концентрации 7 %.

При загрязнении почв бензином с низким октановым числом (Аи-80) отмечено испарение легких углеводородов (85%) и деструкция более тяжелых углеводородов (15%), как аборигенной микрофлорой, так и микроорганизмами, внесенными с препаратами. Наибольший эффект деструкции нефтяных углеводородов биопрепаратами получен при загрязнении почв нефтью, для которой потери низкомолекулярных углеводородов за счет испарения значительно ниже, чем для дизельного топлива и бензина.

При загрязнении почв мазутом, деструкция данными препаратами происходит очень медленно. По результатам исследований на 60-е сутки отмечена деструкция n-алканов в диапазоне C₁₈-C₂₁ отечественными штаммами, а препаратом «Микрозим® Петро Трит» - n-парафинов до - C₂₄. Остаток фракции содержит высокомолекулярные углеводороды C₂₅-C₃₆ нефтяного происхождения, для полной деструкции которых, данный период времени (60 суток) недостаточен.

При загрязнении почв, независимо от их типа, бензином с высоким октановым числом (Аи – 96) наблюдается его естественное испарение (96-97%) через 30 суток из чего следует, что дополнительная очистка препаратами не требуется.

Установлено, что механизм действия препаратов при очистке почв заключается не только в биохимической деструкции нефти высокоактивными бактериями, но и в активизации природных микробных биоценозов продуктами метаболизма.

Исследование является результатом работы по проекту 05.01.04 ГИ «Разработка приемов оптимизации методов восстановления почв, загрязненных горюче-смазочными материалами, на основе определения оптимальных параметров и свойств почв, обеспечивающих реализацию потенциальной активности биопрепаратов», выполняемому в рамках НТП О.0493 «Разработка и использование генно-инженерных и клеточных технологий в медицине, сельском хозяйстве, охране окружающей среды, пищевой и перерабатывающей промышленности» на 2009-2011 годы.

Хозяйственное состояние природных пастбищ на территории Ики-Бурульского района Республики Калмыкия Халгинова Баира Владимировна

(Калмыцкий государственный университет), Россия, Элиста, norjunta@mail.ru)

Летом 2010 г. было проведено геоботаническое обследование природных пастбищ на территории Ики-Бурульского района, арендуемых крестьянскими (фермерскими) хозяйствами. Исследования растительных сообществ проведены в соответствии с общепринятыми методами геоботанических обследований. В растительном покрове преобладают ковыльные (ковыль волосовидный), типчаково-ковыльные (овсяница валлиская, ковыль волосовидный), лерхопопынные, чернопопынные растительные сообщества.

Средняя урожайность пастбищ отдельных фермерских хозяйств варьирует от 2,8 до 5,1 ц/га сухой поедаемой массы. Анализ хозяйственного состояния пастбищ четко выявил зависимость состояния пастбищ от их использования. Исследованную территорию по состоянию пастбищ можно разделить на 4 группы: пастбища находятся в удовлетворительном состоянии, нагрузка соответствует экологически допустимой; пастбища находятся в удовлетворительном состоянии, нагрузка ниже экологически допустимой; пастбища находятся в удовлетворительном состоянии, нагрузка выше экологически допустимой (возможно, такой дисбаланс связан с тем, что животные выпасаются на других участках); пастбища находятся в неудовлетворительном состоянии, нагрузка выше экологически допустимой.

Для эффективного использования природных пастбищ, сохранения их емкости важно соблюдать экологически допустимую пастбищную нагрузку. Чем значительно превышение допустимой пастбищной нагрузки, тем быстрее происходит деградация растительности пастбищ: снижается доля хорошо поедаемых многолетних видов, возрастает численность малопоедаемых и ядовитых растений. Особенно критическая ситуация складывается на исследованной территории во второй половине лета (июль-август), поскольку злаки к этому времени уже заканчивают вегетацию, а полныи находятся в состоянии летнего покоя.

Учитывая специфическую динамику урожайности доминирующих на территории злаковых и полынных травостоев, во второй половине лета необходимо в 2 раза снизить пастбищную нагрузку. Для этого рекомендуется часть поголовья перевести на резервные пастбища (по понижениям, вблизи озер, выпас по стерне) или на полустойловое содержание.

Влияние углеводородных загрязнителей на всхожесть семян в условиях прямого контакта

Халилова Айгуль Фидаилевна

*(Казанский государственный университет, НИЛ Химии окружающей среды,
Россия, Казань, ahalilova@gmail.com)*

Цель работы - оценка влияния на всхожесть семян культурных растений степени впитывания ими алифатических и ароматических углеводородных загрязнителей в зависимости от длительности прямого контакта, а также массы семян.

Объектами исследований являлись покоящиеся семена кукурузы (*Zea mays L.*, сорт «Катерина»); сорго сахарного (*Sorghum saccharatum Jakushev*) и травянистого (суданская трава, *S. sudanense (Piper) Stapf.*), райграса пастбищного (*Lolium perenne L.*), а также вики посевной (*Vicia sativa L.*). В качестве загрязнителей исследовали углеводороды (УВ) алифатического (н-тридекан) и ароматического (1-метилнафталин, бензол и толуол) рядов. Длительность контакта семян с УВ составляла от 20 мин до 8 часов.

Всхожесть семян всех культур снижалась с увеличением степени впитывания УВ семенами. н-Тридекан и 1- метилнафталин оказывали более сильное воздействие на всхожесть всех исследуемых культур по сравнению с моноароматическими УВ. Известно, что по сравнению с бензолом и толуолом гидрофобность (K_{ow}) 1- метилнафталина и н-тридекана выше, вследствие чего их проникновение в покоящиеся семена значительно выше. В результате даже при малой длительности прямого контакта степень набухания семян в данных УВ была высокой, что отразилось на всхожести: обнаружены только единичные проростки семян райграса при воздействии 1- метилнафталина в течение 20 мин и н-тридекана при 40 мин. Наиболее устойчивы были семена вики (всходили даже после 3 часового контакта). Возможно, это связано со строением семенной кожуры растений семейства бобовых, имеющей слой палисадных клеток, пересеченных световой линией, что обуславливает их твердосемянность и пониженную проницаемость.

Степень набухания семян снижалась от более мелких семян к более крупным и располагалась в следующем порядке: райграс > два сорта сорго > вика > кукуруза.

Работа выполнена при поддержке грантов Федерального агентства по образованию РФ в рамках ФЦП (ГК П1382) и РФФИ №09-04-01553

Rhodococcus-сурфактанты: получение и перспективы практического использования

Чернявская Мария Ивановна¹, Перова В.А.², Жерновых Е.О.², Черныш Е.Ю.²

(¹Белорусский государственный университет, Биологический факультет, ²Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Беларусь, Минск, amsonova@mbio.bas-net.by)

Нефть и продукты ее переработки являются одним из самых распространенных источников загрязнения почвы, поверхностных и подземных вод. Углеводороды в виде высокомолекулярных парафинов, ароматических и полициклических соединений, связываясь с частицами почвы, становятся ограниченно доступными для микроорганизмов, что приводит к снижению скорости их биодegradации. Использование сурфактантов может увеличить

десорбцию и растворимость углеводородов нефти и тем самым повысить биодоступность гидрофобных соединений для микробных клеток и повысить скорость и степень биодеструкции углеводородов.

Максимальное количество сурфактанта из наиболее активной культуры *Rhodococcus wratislaviensis* Г13, извлекаемое при использовании системы растворителей, состоящих из МТБЭ, составляет 10 мл/л. Поверхностное натяжение КЖ *R.wratislaviensis* Г13 составляет

34,503 мН/м. Разведение биосурфактанта в 10 и 100 раз изменяет значение поверхностного натяжения до 23,52 и 43,725 мН/м.

Эмульгирующая активность *R.wratislaviensis Г13* на гексадекане и гексане колеблется в течение 0-168 ч. в пределах 40,0–62,5 и 85,7-92,5 % соответственно. Химический состав биосурфактанта, выделенных из культуры *R.wratislaviensis Г13* с использованием систем различных растворителей представлен: липидами (65-60%), белками (1-1,8 %), углеводами (0,01-0,01 %).

Лабораторные испытания активности сурфактанта, полученного из клеток *R.wratislaviensis Г13*, показали его высокую эффективность в процессе нефтеотмывания песка. Препарат в разведении 0,1; 1 и 2% способствовал отмыванию нефти (5%) из песка на 51,8; 82,7 и 100% соответственно.

Результаты лабораторных исследований технологических свойств, продуктивности и активности культуры *R.wratislaviensis Г13* в очистке почвы и сточных вод, позволяют рекомендовать использование ее в разработке технологии получения и использования препарата иммобилизованных сурфактантообразующих микроорганизмов для очистки почвы и воды от нефти и продуктов ее переработки. Иммобилизованная на полиамидной нити в лабораторном биореакторе, она обеспечивала очистку модельно загрязненной дизельным топливом (2%) сточной воды на 95,8% через 96 часов при скорости протока модельного потока 22,2 мл/час.

Получение экологически безопасных поверхностно-активных соединений биогенного происхождения позволит вывести из промышленного производства и использования высокотоксичные химические препараты, в частности, сурфактанты.

Применение ГИС-технологий для изучения территориального распределения численности мышевидных грызунов Ульяновской области Шематицина Галина Борисовна

(Ульяновский государственный университет, Россия, Ульяновск, fragilis@list.ru)

Географический подход – одно из важнейших направлений зоологического мониторинга, позволяющий решить ряд важнейших экологических и эпидемиологических проблем – на современном этапе успешно осуществляется с использованием ГИС-технологий

Была разработана компьютерная программа для изучения территориального распределения мышевидных грызунов Ульяновской области, которая позволила проанализировать данные по численности наиболее распространенных видов за период с 2001 по 2010 гг., накопленные в областном центре Госсанэпиднадзора (31092 ловушко-ночей, 7131 грызунов).

Впервые была предпринята попытка схематического картирования распределения 4 видов мышевидных грызунов на территории Ульяновской области по уровню численности (низкий, средний, высокий).

Высокая численность доминирующего вида мышевидных грызунов в Ульяновской области - рыжей полевки (*Myodes glareolus* Schreber, 1780) приурочена к смешанным лесным массивам с преобладанием ольхи и липы. Низкой численностью обладают открытые станции.

Мыши лесная (*Apodemus uralensis* Pallas, 1811) и желтогорлая (*Apodemus flavicollis* Melchior, 1834) имеют большое сходство в распределении численности, что связано выбором местообитаний. Они тяготеют к смешанным лесам и перелескам лесостепного ландшафтного района Правобережья, и лесам Левобережья. Низкая численность наблюдается в степных участках, а также в лесах запада области. Полевая мышь (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771) тяготеет к открытым биотопам – лугам и полям. Вся степная подзона, а также западные леса и все южные районы области (Исключая часть Радищевского и Старокулаткинского имеют низкую численность вида.

Северо-западные лесные массивы области (Сурский, Карсунский, Майнский районы), а также некоторые лесные формации южных районов области (Радищевский, Старокулаткинский, Новоспасский) обладают уникально высокой численностью всех видов *r. Apodemus*. На этих территориях зафиксированы природные очаги лептоспироза, основным

резервуаром которого в Ульяновской области среди мышевидных грызунов являются лесные мыши.

Таким образом, данные территориального распределения численности, полученные нами при помощи новой программы, могут быть использованы в эпидемиологическом анализе территории области по инфекциям, передающимся изучаемыми видами.

Влияние мер по профилактике АЧС на юге России на популяцию кабана.

Яровенко Александр Юрьевич

(Дагестанский Государственный Университет, Биологический факультет, Россия, Махачкала, Aleex5@rambler.ru)

В настоящее время в России наиболее проблемным вопросом для существования популяций дикого кабана (*Sus scrofa L.*) является эпизоотия африканской чумы свиней (АЧС). До сих пор не разработаны средства ее профилактики, она характеризуется высоким процентом летальности. Анализ материалов по данной теме проводился с 2007г. по настоящее время.

Анализ динамики численности кабана по субъектам ЮФО и СКФО за 2007-2010 гг. по материалам ФГУ «Центрохотконтроль» выявил падение численности на 49%. В Кабардино-Балкарии, Ингушетии, Северной Осетии, Ставропольском крае кабан практически исчез. В Краснодарском крае, Калмыкии, Адыгее падение численности было менее выражено, в Ростовской области оно незначительно. В Астраханской и Волгоградской областях популяции кабана даже увеличились. Численность же в субъектах РФ примыкающих к северной границе ЮФО растет.

Исследование возможных причин резкого снижения численности кабана на юге России показало, что в целом по югу РФ ни повышение добычи кабана, ни гибель части его от АЧС, ни климатические факторы или влияние хищников не могли быть основной причиной произошедшей депрессии кабана.

С 2008г. в качестве меры по борьбе с АЧС внедряется уничтожения кабанов. Как показывает практика, этот метод серьезно усиливает фактор беспокойства и вызывает миграцию кабанов, угрожая распространением АЧС на большие территории. В то же время в материалах Россельхознадзора МСХ РФ отмечается тенденция все большего распространения АЧС из южных субъектов к центру России.

Проведенный анализ численности кабана на юге России и возможных причин её динамики приводит к выводу, что методы истребления кабана, рекомендуемые Россельхознадзором МСХ РФ неэффективны. Их итогом стала реальная угроза потери популяций кабана и сокращения биологического разнообразия на юге РФ. В результате резко возросшего фактора беспокойства популяций кабана в субъектах, охваченных АЧС, происходит экспансия эпизоотии АЧС в центральные регионы России, по причине вынужденной миграции кабанов в эти районы.

Влияние тяжелых металлов на активность антиоксидантных ферментов растений пшеницы

Яруллина Лилия Маратовна

(Башкирский государственный университет, Биологический факультет, Россия, Уфа, Lilechek89_89@mail.ru)

Присутствие тяжелых металлов в опасных количествах в почве негативно отражается на течении физиологических процессов в растениях. Одним из опасных последствий такого воздействия является усиленное образование в растительных тканях активных форм кислорода (АФК), которые повреждают клетки на уровне нуклеиновых кислот и белков. Накопление АФК является следствием нарушения баланса между скоростью образования и скоростью утилизации их антиоксидантной системой. В работе последней участвуют ферменты, такие как супероксиддисмутаза (СОД), каталаза (КАТ), пероксидаза (ПО). Можно полагать, что успешное развитие устойчивости растений к различным стрессорам, в том числе воздействию тяжелых металлов, в значительной степени зависит от функционирования этой системы.

Объектами исследования служили растения пшеницы (*Triticum aestivum*). Растения выращивали при комнатной температуре (22-24°C) и искусственном освещении с 16-ти часовым светопериодом, освещенностью 16 тыс. лк. Перед посевом семена стерилизовали 80%-ным этанолом (3 мин), промывали дистиллированной водой, аккуратно выкладывали в кювету на фильтровальную бумагу, смоченную водопроводной водой, и проращивали в течение 3-х суток. Далее проростки переносили в чашки Петри на растворы ацетата кадмия (5 - 500 мкМ), сульфата меди (0,5 мг/мл) и нитрата железа (2 мг/л). Определение активности КАТ, СОД, ПО производили в течение 48 ч после посадки проростков на среду с добавлением солей металлов. Контролем служили проростки, растущие на воде.

Результаты проведенных исследований показали, что ионы тяжелых металлов оказывают на растения пшеницы токсическое действие, которое проявляется, прежде всего, в снижении роста корней. Обработка растений пшеницы солями кадмия, меди и железа приводила к достоверному повышению активности изученных ферментов, что подтвердило предположение о повышенном образовании АФК в условиях токсического стресса. Значительное повышение активности СОД в листьях пшеницы при воздействии CuSO_4 , $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ свидетельствует о том, что СОД является эффективным ферментом защиты растения от повреждений, вызываемых окислителями.

ПОДСЕКЦИЯ «ЭКОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ»

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ

Динамика видового богатства растительных сообществ в ходе восстановительной сукцессии после выращивания *Oryza sativa*

Бембеева Ольга Геннадиевна

(ГОУ ВПО «Калмыцкий государственный университет», Россия, Элиста,
bembeeva_og@mail.ru)

Впервые рис был посеян на территории Калмыкии в 1947-1948 гг. Наиболее перспективным для рисосеяния оказался район Сарпинской низменности, где рис выращивается с 1965 г. по сегодняшний день. По мере ухудшения состояния оросительных систем, из-за вторичного засоления почв урожайность риса снижалась, и его возделывание на некоторых полях стало убыточным, поэтому в настоящее время там появились залежные участки. Для введения их в сельскохозяйственный оборот необходимы данные о ходе на них восстановительной сукцессии.

Ход восстановительной сукцессии на залежных участках различного возраста, от 1 до 30 лет, исследован на территории СПК «Восток» Октябрьского района.

В ходе восстановительной сукцессии мы выделили несколько стадий. 1. Бурьянистая стадия. Травостой формируют сорные растения: *Lactuca tatarica*, *Sonchus arvensis*, *Rumex confertus*, *Salsola australis*, *Atriplex tatarica*, *Erigeron canadensis*, *Polygonum pseudoarenarium*, *Setaria viridis*. *Phragmites australis* и *Bolboschoenus maritimus* произрастают отдельными пятнами.

2. Стадия корневищных растений. Обилие сорных растений снижается, проективное покрытие *Phragmites australis*, *Bolboschoenus maritimus* увеличивается. Доминирующее положение этих видов объясняется особенностями их размножения, высоким уровнем грунтовых вод.

3. Стадия галофитов. Растительность представлена бескильничевым или солянково-бескильничевым сообществами. Из травостоя выпадают корневищные многолетники *Phragmites australis* и *Bolboschoenus maritimus*, их сменяют однолетние виды из сем. *Chenopodiaceae*: *Bassia sedoides*, *Petrosimonia oppositifolia*, *Salsola australis* и многолетний злак *Puccinellia distans*, доминирующий на отдельных участках. В травостое появляются многолетние виды, характерные для засоленных лугов: *Inula britannica*, *Achillea millefolium*, *Artemisia santonica*. Наряду с ними сохраняются сорные виды *Cichorium intybus*, *Eremopyrum triticeum*, *Atriplex tatarica*.

4. Сантониннопопынная стадия. Видовой состав пополняется кустарником *Tamarix ramosissima*, в травостое доминирует *Artemisia santonica*, сохраняются *Petrosimonia oppositifolia*, *Puccinellia distans*.

5. Попынная стадия. Отличается от предыдущей стадии исчезновением из травостоя галофита *Petrosimonia oppositifolia*. Возрастает участие в травостое *Artemisia lerchiana*, *Agropyron desertorum* – видов, характеризующих зональную растительность.

Процесс нарастания видового богатства растительных сообществ на залежных участках после выращивания риса достигает пика разнообразия на третьей стадии сукцессии и стабилизируется к четвертой стадии. Динамика числа видов, внедряющихся в серийные сообщества, происходит активнее на начальных стадиях сукцессии, а вытеснение видов – на последних стадиях.

Сравнение высоты растений с эколого-морфологическими параметрами их листьев

Богатырев Василий Александрович

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва,
vasilb@inbox.ru)

В нашей работе мы рассмотрели связь высоты альпийских растений с эколого-морфологическими параметрами их листьев.

Полевые исследования проводили на высокогорном стационаре Малая Хатипара. Объектом исследования были выбраны наиболее характерные альпийские сообщества Тебердинского заповедника: альпийская лишайниковая пустошь (АЛП), пестроовсянищевый луг (ПЛ), гераниево-копеечниковый луг (ГКЛ), альпийский ковер (АК). Данные по высоте растений были получены в локальных точках по 1000 в каждом сообществе с помощью модернизированного прибора Леви. Анализировали только данные по сосудистым растениям, имеющих больше 10 касаний (1% выборки).

Для сравнения с высотой растений были выбраны масса сухих и сырых листьев, его площадь, содержание воды, удельная листовая поверхность и толщина листьев.

На АЛП с высотой растений положительно коррелирует удельная листовая поверхность листа, т.е. более высокие растения имеют более тонкие («дешевые») листья.

На ПЛ отмечена отрицательная корреляция средней и максимальной высоты растений с содержанием воды в листьях. Это свидетельствует, что на ПЛ более высокие растения имеют меньшую оводненность листьев.

ГКЛ характеризуются более богатым спектром коррелирующих параметров. Масса сухих и сырых листьев положительно скоррелирована со средней высотой и максимальной высотой растений. Площадь листа положительно скоррелирована со средней высотой растений. Следовательно, чем выше растение в данном фитоценозе, тем крупнее у него будут листья.

На АК толщина листьев отрицательно коррелирует с максимальной высотой, из чего следует, что более высокие растения имеют более тонкие листья.

Таким образом, эколого-морфологические параметры листьев растений по-разному связаны с вертикальной структурой изученных сообществ, для каждого сообщества выявлены свои связи, поэтому можно предположить различные механизмы формирования вертикальной структуры альпийских сообществ разных типов.

**Классификация и картографирование растительности Лазовского заповедника им.
Л.Г. Капланова (Приморский край)**
Дудов Сергей Валерьевич

*(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва,
serg.dudov@gmail.com)*

Предлагаемая работа посвящена выявлению закономерностей пространственного размещения и инвентаризации ценотического разнообразия растительности Лазовского заповедника.

Целью работы было выявление современного состояния растительности и картографирование актуального растительного покрова. В задачи работы входило создание классификационной схемы растительности, составление на ее основе легенды и построение карты растительности. Отметим, что предыдущая работа по растительности заповедника была основана на материалах середины XX века, с тех пор природные комплексы заповедника претерпели значительные изменения.

Материалами работы послужили 310 авторских геоботанических описаний, выполненных по стандартной методике на площадках 400 м², космические снимки высокого разрешения Landsat 7 и карты лесной таксации.

В результате работы была составлена классификационная схема растительности заповедника, положенная в основу легенды карты. Для классификации лесных сообществ был использован эколого-ценотический подход, выделено 6 циклов, 26 серий и 32 группы лесных ассоциаций.

На основе метода И. Браун-Бланке составлена классификация и выявлен пространственно-временной экологический ряд приморских лугов, одновременно связанный с особенностями строения морских берегов. Растительные комплексы побережья морей Дальнего Востока относительно слабо изучены, поэтому проведенная работа представляется актуальной и дает новую информацию к характеристике побережий Японского моря.

Наряду с гомогенными категориями растительности были выявлены фитоценохоры (хорологические единицы растительного покрова) – эрозионные комплексы и долинные ряды.

На основе материалов дистанционного зондирования и оригинальных полевых данных была составлена карта растительности масштаба 1:100000, легенда содержит 34 таксона низшего ранга. Созданная карта растительности может быть использована при дальнейших научных исследованиях различного профиля.

Особенности возобновления кедра сибирского в различных типах леса бассейна реки Б. Порожня (Печоро-Ильчского заповедник)

*Ефименко Алексей Сергеевич¹, Лазников А.А.¹,
Алейников А.А.²*

¹Брянская государственная инженерно-технологическая академия, Брянск, Россия,

²Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов РАН, Москва, Россия,

aaacastor@gmail.com

В настоящее время доля кедра сибирского (*Pinus sibirica*) в малонарушенных таежных лесах Европейской России, где он вместе с елью сибирской (*Picea obovata*) и пихтой сибирской (*Abies sibirica*) образует темнохвойную тайгу, постоянно сокращается.

Цель работы – изучить особенности возобновления кедра в основных типах леса модельного речного бассейна. Исследования проводились в 2010 году в Печоро-Ильчском биосферном государственном заповеднике, расположенном на юго-востоке Республики Коми, в подзоне средней тайги. Подрост кедра учитывался на 4-х пробных площадях (по 0,25 га), заложенных в разных типах леса в бассейне реки Большая Порожня (приток р. Печора) на 4 пробных площадях. К подросту относились иматурные растения, подразделенные на 2 подгруппы (im1 и im2). У каждого кедра определялись высота и жизненное состояние, а также отмечался микросайт, на котором он растет (подкроновое или межкороновое пространство, выровненная поверхность, валеж, бугор или яма).

В результате исследований выяснилось, что наиболее высокая плотность подроста кедра в пихто-ельнике чернично-зеленомошном (188 шт./га) и пихтарнике крупнопоротниковом (176 шт./га). В березо-ельнике бореально-мелкотравном плотность подроста в два раза ниже (92 шт./га), а минимальная плотность – в пихтарнике высокотравном (12 шт./га). Соотношение растений разных онтогенетических состояний неодинаково. В чернично-зеленомошном и крупнопоротниковом типах леса im1 – 95%, im2 – 5%, в бореально-мелкотравном – 83% и 17%, в высокотравном встречаются только im1.

Анализ приуроченности к микросайтам показал, что относительно крон деревьев, в чернично-зеленомошном, крупнопоротниковом и высокотравном типах леса подрост кедра чаще встречается в подкроновом пространстве, а в бореально-мелкотравном – в межкороновом. При этом во всех типах леса подрост встречается либо на выровненной поверхности, либо на валежинах средней стадии разложения. Анализ виталитетной структуры выявил, что в чернично-зеленомошном, бореально-мелкотравном и высокотравном типах леса преобладает подрост пониженной жизнестойкости, а в крупнопоротниковом – нормальной.

Использование флористических принципов И. Браун-Бланке для выявления экологически значимых рубежей и классификации островных флор (на примере островов Порьей губы Белого моря)

Кожин Михаил Николаевич

*(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва,
Кандалакшский государственный природный заповедник, Россия, Кандалакша)*

Острова Кандалакшского залива Белого моря находятся на разных возрастных стадиях образования наземных экосистем. Их формирование происходит в результате современного поднятия суши. Заселение островов осуществляется путем закономерного внедрения видов по мере формирования местообитаний. Современный спектр местообитаний острова является отражением определенной возрастной стадии развития наземных экосистем. Ранее

подобные гипотезы тестировали с использованием методов кластерного анализа, выделения индикаторных и общих видов, а также по преобладающим растительным сообществам. Однако применение этих методов имеет ряд недостатков.

В работе предложено использование метода табличной обработки И. Браун-Бланке для сравнения флористических списков островов с целью классификации. Применение данного метода для островных флор обосновано тем, что классифицируемые единицы имеют естественные границы и флоры сравнимы между собой.

Полевые исследования флор малых (до 10 га) островов проводились нами в Порьей губе Белого моря в июле-августе 2008-2010 г. Всего исследовано 120 островов.

Обработка флористических материалов на основе табличного метода И. Браун-Бланке позволила нам разработать классификационную схему малых островов Порьей губы Белого моря по особенностям флоры. Исследованные малые острова объединены в 7 групп, которые входят в 2 типа и 4 подтипа. Выделенные единицы хорошо флористически обособлены и иерархично дифференцируются на группы на основе сходства видового состава с учетом постоянства.

Объединение островов по особенностям флоры в группы разного ранга соответствуют ключевым экологическим рубежам: 1. группировка островов только с приморской луговой растительностью, в состав которой входят облигатные и факультативные галофиты, и островов с развитой гликофитной и галофитной растительностью; 2. переход от безлесной стадии к лесной при эволюции острова; 3. соответствие определенным временным границам развития острова, причем в условиях разной физико-географической обстановки они могут частично различаться. Полученная иерархия демонстрирует стадии развития островов и показывает их экологическое своеобразие.

Деятельность грязевого вулкана Магунтан как экологический фактор

Корзников Кирилл Александрович

(Сахалинский государственный университет, Россия, Южно-Сахалинск,

korzkir@mail.ru)

Грязевой вулкан Магунтан (средний Сахалин) является резерватом ряда эндемичных видов растений. На территории вулкана, площадью чуть больше 2 га, произрастают 5 эндемичных видов растений, из которых 4 локализованы только на вулкане. Растительность вулкана локализована в ограниченном пространстве, а потому ее флора может быть уязвима, особенно принимая во внимание стихийность и непредсказуемость извержений. Вулкан выступает в виде комплексного экологического фактора.

Наблюдения начаты нами в 2005 году и продолжаются до настоящего времени. При изучении флоры и растительности вулкана используются стандартные геоботанические методики, контроль над активностью вулкана осуществляется, с нашим участием, сотрудниками ИМГиГ ДВО РАН.

За время наблюдений был учтен флористический состав цветковых растений вулкана, который включает 16 видов из 16 родов 10 семейств и не имеет ни одного общего вида с окружающей вулкан тайгой. Установлен высокий эндемизм флоры, составляющий 31%. Растительность вулкана образуют 3 концентрические полосы, постепенно сменяющие друг друга по мере удаления от центральной «мертвой зоны» вулкана к периферии. Доминантами и эдификаторами в фитоценозах вулкана выступают эндемики: щучник Цвелева (*Deschampsia tzevelevii* Probat.) в первой зоне зарастания, первоцвет сахалинский (*Primula sachalinensis* Nakai) и горечавка Сугавары (*Gentiana sugawarae* (Hara) Czer.) во второй зоне зарастания, полынь илистая (*Artemisia limosa* Koidz.) в третьей зоне зарастания, околонтравяет территорию вулкана копеечник сахалинский (*Hedysarum sachalinense* V.Fedtsch.). По мере удаления от центра вулкана происходит смена и обогащение видового состава, усложнение пространственной структуры фитоценозов.

Наши наблюдения последних 7 лет и литературные сведения показывают, что видовой состав значительно не изменяется, но происходит пространственное перераспределение фитоценозов. Таким образом, деятельность вулкана, с чередующимися периодами повышения активности и ее снижения, не представляет угрозы уничтожения

сформировавшейся флоры, т.к. извержения затрагивают отдельные секторы вулкана. Только при извержении, выбросы которого зальют всю поверхность вулкана, можно ожидать исчезновение некоторых видов. Необходимым остается мониторинг динамики флоры и показателей фитоценозов.

Микромозаичная структура экотонов лес-тундра Кольского полуострова
Кравченко Татьяна Валерьевна

*(Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов РАН, Россия, Москва,
tv.kravchenko@rambler.ru)*

В связи с климатическими изменениями особый интерес вызывает изучение экотонов лес-тундра. Цель данного исследования – характеризовать пространственную микромозаичную структуру и видовое разнообразие растительности экотонов лес-тундра на Кольском полуострове. Исследования проводились в долине реки Тульйок в Хибинских горах (горный экотон) и окрестностях оз. Кантъявр Мурманской области (зональный экотон).

Использовали методы крупномасштабного картографирования ключевых участков (трансект 10×1000 м и 10×50 м) в масштабе 1:100 и 1:20 с выделением микрогруппировок – пространственно однородных, элементарных растительных структур. Границы микрогруппировок определяли распространением доминирующих видов. Микрогруппировки со сходным видовым составом и проективным покрытием доминирующих видов формируют тип микрогруппировок (микроассоциацию). Для исследования крупных территорий использовали космоснимки высокого разрешения (0,5м). Для характеристики видового состава экотонов выполнены геоботанические описания в фитоценозах (10×10 м – 100 описаний) и в доминирующих микроассоциациях (1×1 м – по 20 в микроассоциации). Статистическую обработку данных проводили с помощью программы PCORD с использованием методов NMS (неметрическое многомерное шкалирование) и MRPP (Multi-Response Permutation Procedures)

В горном экотоне долины р. Тульйок выделено 4 фитоценоза. Число видов сосудистых растений колеблется от 17 до 25. В зональном экотоне выделено 6 фитоценозов с числом видов сосудистых растений от 18 до 43. Тундровые и лесотундровые фитоценозы ординированы на сухие и увлажненные участки. Число доминирующих микроассоциаций в зональном экотоне выше, чем в горном, причем 20% микроассоциаций – общие для тундры, лесотундры и леса.

При классификации космоснимков высокого разрешения выявлено 8 доминирующих наземных структур, коррелирующих с доминирующими микроассоциациями.

Автор выражает благодарность научному руководителю Н.В. Лукиной, а также Е.А. Беловой, О.В. Тутубалиной и Аннике Хофгаард. Работа поддержана Программой Президиума РАН «Биологическое разнообразие», грантом РФФИ – 10–04–00213-а и грантом Президента РФ по поддержке молодых ученых МК–4046.2011.4.

Возобновление ели под пологом лиственных лесов в национальном парке
«Лосиный остров»

Кулишов Алексей Петрович, Абатуров А.В.

(Институт лесоведения РАН, Россия, Московская обл., с. Успенское, kul612@gmail.com)

В НП «Лосиный остров» с середины 1970-х годов проводились исследования естественного возобновления ели в разных типах леса. Было установлено, что под пологом ельников возобновление ели часто малочисленно или отсутствует. Целью данной работы было охарактеризовать количество, плотность размещения и показатели роста елового возобновления в насаждениях, где оно было обнаружено в большом количестве. Одно из них – перестойный березняк снытьево-волосистоосоковый, другое – перестойный липняк снытьево-пролесниковый.

Для характеристики этих насаждений заложены временные пробные площади (ПП) размером 0,2 га (березняк) и 0,25 га (липняк). Чтобы провести учет возобновления ели, выявить показатели его роста и развития и характер размещения на ПП, в каждом

насаждении была заложена трансекта длиной 200 м и шириной 10 м. Всего на трансектах вошло в учет 420 живых и 61 сухой экземпляр возобновления ели. Для определения возраста в обоих насаждениях взято в общей сложности 65 дополнительных экземпляров ели.

Березняк и липняк – перестойные высокополнотные, однородные по составу насаждения (высота древостоя 28-30 м). Средняя высота елового возобновления в березняке – 3 м при среднем возрасте 43 года и величине годичного прироста в высоту 7,4 см. В липняке средняя высота елового возобновления составляет 5 м при среднем возрасте 48 лет; средний годичный прирост в высоту – 9,8 см. В обоих насаждениях в составе возобновления присутствуют единичные экземпляры ели возрастом более 60 лет, имеющие высоту 14,1 м (в березняке) и 12,5 м (в липняке); при этом они фактически не достигают высоты нижней границы крон основного полога. Статистический анализ неоднородности размещения елового возобновления показал групповой тип размещения. Средняя плотность елового возобновления в квадрате 5×5 м – 3 шт./квадрат, максимальная – 9 шт./квадрат (березняк) и 13 шт./квадрат (липняк).

Проведенные исследования позволяют сделать вывод, что наблюдаемое в березняке и липняке возобновление ели под пологом бесперспективно, поскольку медленно растет в высоту и не сможет войти в состав основного полога древостоя. Прогноз успешности возобновления ели под пологом насаждений нельзя напрямую основывать на данных о численности. Групповой характер размещения елового тонкомера под пологом насаждений следует рассматривать как фактор, понижающий успешность возобновления.

Оценка запасов углерода в надземной части темнохвойных насаждений южной тайги Западной Сибири

Махныкина Анастасия Владимировна

(Сибирский Федеральный Университет, Красноярск, Россия, sunlife1408@yandex.ru)

В связи с глобальными изменениями климата резко активизировались исследования, связанные с оценкой роли лесов в регулировании биосферных процессов. Лесные экосистемы Сибири играют важную роль в поддержании структурного баланса углерода и баланса минеральных веществ, обладают высокой способностью к саморегуляции и установлению равновесия процессов обмена вещества с окружающей природной средой. Приводимые в литературе показатели стока углерода в России изменяются в широких пределах, что объясняется как большим разнообразием российских лесов по составу, структуре и продуктивности, так и недостатком, а часто и полным отсутствием региональных оценок баланса углерода.

Исследования проводились в коренных насаждениях – представленных в основном пихтарниками и кедровниками, и в производных насаждениях – представленных березняками и осинниками, насаждения объединялись для построения рядов лесовосстановительных сукцессий. Запас и продукцию надземной части фитомассы древостоя, подроста и подлеска определяли методом модельных деревьев, а фитомассу травяно-кустарничкового и мохового ярусов оценивали методом укосов.

Общий запас $S_{\text{ФИТОМАССЫ}}$ в темнохвойных насаждениях южной тайги юго-восточной части Западной Сибири, изменяется от 75.8 до 129.0 т С га⁻¹ в производных березняках и от 48.9 до 110.5 т С га⁻¹ в пихтарниках. Основную часть запаса (94-97 %) формирует древостой. В производных березняках $S_{\text{ФИТОМАССЫ}}$ на 37-57 % выше, чем в 50- и 90-летнем пихтатче, и на 14 % - чем в 170-летнем коренном пихтовом насаждении. Доля основной лесобразующей породы – пихты в составе NPP древостоя с возрастом уменьшается от 93 до 51 %. Участие подроста и подлеска в формировании годичной продукции углерода невелико. В производных березняках их доля составляет 2-3 %, в пихтарниках с возрастом снижается от 4 до 1 % суммарной величины NPP.

Надземная часть фитоценоза в процессе фотосинтеза аккумулирует за год от 3 до 8 % общего запаса углерода фитомассы, соответственно в производных и коренных насаждениях. В целом, по величине углерода, ежегодно депонируемого древесным ярусом, производные березняки в 1.3–1.7 раза превосходят пихтарники, восстанавливающиеся без смены породного состава.

**Внутрипопуляционная дифференциация ели сибирской на ранних стадиях
последпожарного восстановления северотаежных еловых лесов**

Мишко Алиса Евгеньевна

*(Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Россия, Санкт-Петербург,
mishko-alisa@mail.ru)*

Поливариантность онтогенеза особей в составе ценопопуляций растений является одной из интересных и мало исследованных проблем современной биологии и экологии. Цель работы состояла в анализе дифференциации семянцев *Picea obovata* Ledeb. по показателям роста и развития на начальной стадии восстановления ценопопуляции данного вида после пожара в условиях северной тайги. Исследования проводились на территории Кольского полуострова на 8-летней гари сосново-елового сообщества зеленомошного типа. В составе ценопопуляции ели сибирской были выявлены особи трех онтогенетических состояний – ювенильного (j), имматурного 1-ой подгруппы (im₁) и имматурного 2-ой подгруппы (im₂). На основе сравнительного анализа возраста и 16 морфометрических параметров, было установлено, что особи (более 100 шт.), находящиеся на разных стадиях онтогенеза имеют статистически одинаковый средний возраст (4,5 года), но достоверно различаются по высоте, диаметру осевого побега, приросту главной оси за последние три года (в 1,7–3,2 раза). Имматурные особи 1-ой и 2-ой подгрупп существенно различаются по количеству боковых побегов первого порядка (в 4,5 раза) и величине их среднего прироста (в 2 раза). Переход в im₁ состояние характерен для особей со средней величиной линейного прироста главной оси более 1,5 см, переход в im₂ состояние – более 3,5 см и имеющих не менее 12 боковых ветвей 1-го порядка. Параметры роста семянцев за последние три года не имеют достоверной связи с их высотой в первые годы развития (в возрасте 3 лет). Полученные результаты позволяют заключить, что уже через 8 лет после пожара ценопопуляция ели сибирской, состоящая из особей в возрасте от 2 до 6 лет, характеризуется существенной неоднородностью по показателям роста и развития. Дифференциация 5–6-летних особей ели сибирской по трем стадиям онтогенеза не зависит от параметров их роста в первые годы жизни (от наследственных особенностей), но тесно коррелирует со скоростью роста в последние 3 года. Это указывает на ведущую роль условий микроместообитания, среди которых можно выделить три основных типа, обеспечивающих существование одновозрастных особей ели сибирской в трех онтогенетических состояниях.

Приречная и приречьявая растительность Хибинского массива

Никитина Ольга Сергеевна

*(ГОУ ВПО Череповецкий государственный университет, Россия, Череповец,
Nezneika-89@mail.ru)*

Работа по изучению приречной и приречьявой растительности Хибин была предложена лабораторией флоры Полярно-альпийского ботанического сада-института РАН в рамках сотрудничества с кафедрой биологии Череповецкого государственного университета. Специального исследования растительных сообществ данного типа в Хибинах ранее не проводилось, поэтому изучение этой темы актуально в свете развития геоботаники северных территорий. В вегетационные периоды 2009 и 2010 годов на берегах рек, ручьёв и озёр было сделано 50 полных геоботанических описаний на стандартных пробных площадках и заложено 3 трансекты. В выборку вошли также учётные площади на заболоченных территориях по берегам рек и озёр. Для сравнительных исследований по методу эталонных участков были заложены учётные площади на побережье Белого моря. Геоботанические описания послужили основой для фитоиндикационных расчётов экологических параметров местообитаний по шкалам Л.Г. Раменского. Результаты исследования показали, что преобладающее число описанных сообществ находятся во влажно-луговых условиях (76-88 ступени увлажнения). Данные расчетов показали единообразии и по шкале богатства почв: практически все площадки располагаются на бедных и небогатых почвах (4-9 ступени). Особняком стоят учётные площади, заложенные на побережье Белого моря – они находятся на богатых солончаковых почвах. Большинство учётных площадей испытывает слабое антропогенное влияние, так как находятся в труднодоступных для человека местах.

Исключением являются изученные берега рек Вудьяврийок, Айкуайвенийок, Юкспорйок и Вуоннейюк. Они находятся в непосредственной близости от автомобильных грунтовых трасс и горнодобывающих предприятий. По степени дигрессии почвенного покрова сильно выделяются учётные площади, заложенные на побережье Белого моря. Здесь наблюдается сбой почвенного покрова, что связано с приливно-отливной деятельностью моря и тем, что данный участок побережья является местом отдыха населения. Проведена математическая обработка диаграмм рассеивания, полученных в ходе индигирования по шкалам Раменского, и описание выделенных кластеров на основе сходства их элементов. Планируется обработка таблиц геоботанических описаний по методу Браун-Бланке с целью выявления растительных ассоциаций и их группировок для дальнейшей инвентаризации, а также проведение индикации по экологическим шкалам Ландольта с целью выявления дополнительных экологических особенностей изучаемых территорий.

Адвентивные растения междуречья Днестр – Турунчук

Савко Ирина Геннадиевна

(Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, Украина, Одесса,
savkoirina@mail.ru)

Адвентивные растения играют значительную роль в различных растительных сообществах. Анализ современного состояния флоры может дать ценный материал для выяснения направлений измененной растительного покрова под действием антропогенного фактора. Целью нашей работы является изучение адвентивных растений междуречья Днестр – Турунчук и прилегающих территорий.

Исследования проводились в окрестностях районного центра города Беляевка, Одесской области. В зависимости от уровня антропогенной нагрузки на исследованной территории были выделены характерные типы экотопов. Растения собирали в течение вегетационного периода экскурсионно-маршрутным методом. Общая протяженность маршрута – 25 км. Определение растений и анализ полученных результатов были проведены в камеральных условиях.

Всего было выявлено 125 видов растений, принадлежащих к 66 родам, 35 семействам. Наибольшее количество видов относится к семействам: *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Poaceae*, *Fabaceae*, *Solanaceae*, *Aceraceae*. Наибольшим количеством видов представлены роды: *Acer*, *Cuscuta*, *Amaranthus*, *Lepidium*. Почти половина всех семейств одновидовые, что является показателем сильной антропогенной нагрузки на флору. Расположения ведущих семейств в изученной флоре соответствует их рангу в синантропной флоре Украины.

Согласно эколого-морфологической классификации Х. Раункиера, в изученной флоре преобладают терофиты. Основу адвентивной флоры составляют выходцы из Средиземноморской области – 46 видов. Далее следуют растения-выходцы из Юго-Западного Азиатского центра, их 36 видов. Адвенты из Северной и Центральной Америки представлены 22 видами, 14 видов – выходцы из Юго-Восточной Азии. Наименьшим числом – всего 7 видов – представлены вселенцы из Южной Америки.

Таким образом, изученная адвентивная флора имеет характерные особенности, которые выражаются в высоком положении по сравнению с флорой Украины семейств *Solanaceae* и *Aceraceae*, своеобразии спектра ведущих родов, преобладании терофитов среди жизненных форм, а также видов средиземноморского происхождения. Анализ 11 типов экотопов с разной степенью антропогенной нагрузки показал, что наибольшее количество адвентивных видов – в лесозащитных лесополосах, а наименьшее – в садах.

Ценопопуляции *Agropyron cristatum* (L.) Beauv. и *Psathyrostachys caespitosa* (Sukacz.) Peschkova в степных сообществах Центральной Якутии

Семенова Вероника Викторовна

(Северо-Восточный федеральный университет им. М. К. Аммосова, Россия, Якутск,
semveronika@mail.ru)

В Центральной Якутии стоит проблема сохранения уникальных реликтовых степных сообществ. В результате антропогенных факторов увеличивается площадь дигрессивных

степей, деградируют ценные кормовые злаки. В 2008-2010 гг. изучали состояние 22 ценопопуляций (ЦП) *Agropyron cristatum* и 27 ЦП *Psathyrostachys caespitosa*, руководствуясь популяционно-онтогенетическими методами. Установлено, что в природе *Agropyron cristatum* представлен 8, а *Psathyrostachys caespitosa* 7 онтогенетическими состояниями. Анализ онтогенетической структуры ЦП по критерию «дельта-омега» установил наличие всех 6 типов нормальных ЦП *Agropyron cristatum* и отсутствие молодых с преобладанием стареющих ЦП *Psathyrostachys caespitosa*. За короткий промежуток времени (1-2 года) динамические процессы затронули 36,4% ЦП *Agropyron cristatum* и 33,3% ЦП *Psathyrostachys caespitosa*. Молодая ЦП 20 *Agropyron cristatum* через год стала переходной, две ЦП из стареющего и зрелого типа попали в категорию старых. У ломкоколосника большинство зрелых и стареющих ЦП в течение 3-х лет не смещают и сохраняют свой тип в координатах «дельта-омега». Морфометрический анализ особей *Agropyron cristatum* показал, что большинство ЦП депрессивные (54,5-59,1%), остальные процветающие, равновесные отсутствуют, причем в течение 2-х лет виталитетная структура ЦП существенно не изменилась. Для *Psathyrostachys caespitosa*, в отличие от *Agropyron cristatum*, характерны все виталитетные типы ЦП, причем, в течение 3-х лет преобладали процветающие ЦП (70,6-89,5%). Установлено, что одинаковыми признаками-индикаторами обоих видов являются: биологические индикаторы («ключевые» признаки) – число междоузлий и листьев на генеративном побеге, длина междоузлия и влагалища 3-го листа, число узлов и колосков в соцветии, генетические – высота растения, длина 1-2 листа и ширина всех листовых пластинок, экологические – число генеративных и вегетативных побегов. У обоих видов выявлен смешанный стрессово-защитный тип онтогенетической стратегии с преобладанием защитной компоненты. Таким образом, впервые изучена динамика демографии и виталитетной структуры ЦП видов. Разнообразие онтогенетической и виталитетной структуры ЦП двух видов злаков обеспечивает им определенную устойчивость в степных сообществах Центральной Якутии.

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

Выращивание лотоса каспийского в искусственном водоеме Бембева Элеонора Маратовна

(ГОУ ВПО «Калмыцкий государственный университет», Россия, Элиста,
elua.2011@mail.ru)

Лотос каспийский, лотос орехоносный – *Nelumbo caspica* DC. = *N. nucifera* Gaertn. - редкий вид, реликт третичной флоры. Лотос каспийский в дельте Волги растет небольшими зарослями по озерам, лиманам, заводям, старицам с илистым грунтом на глубинах до 2 м. Лотос – священное растение для буддистов всего мира. Цель работы – культивирование лотоса каспийского в искусственном водоеме на территории Калмыкии. Исследования проведены в течение 2010 г. Семена предоставлены сотрудниками Волгоградского регионального Ботанического сада. Скарифицированные семена прорастивали в стеклянных банках в воде с различной минерализацией: 2,73 г/л (из водопровода г. Элиста), 0,36 г/л (очищенной одной из фирм г. Элиста), 0,76 г/л (артезианской из с. Троицкое). Через две недели с начала прорастивания семян поместили в контейнеры с почвой, через 3 недели – в искусственный пруд с минерализацией воды -2,38 г/л в специально изготовленные деревянные ящики. В одном ящике грунт для лотосов состоял из равных частей садовой почвы, перепревшего навоза и песка, в другом – из садовой почвы и песка. Наблюдения за сеянцами в искусственном водоеме показали, что через неделю после их посадки, число листьев в ящике, где в грунт был добавлен перепревший навоз, увеличилось в 1,5 раза; в ящике без навоза – в 2 раза. Такая тенденция сохранялась в течение всего периода роста плавающих листьев. Через полтора месяца после посадки в пруд, диаметр плавающих листьев увеличился до 23 см и появились черешки надводных листьев. С момента появления черешков надводных листьев до достижения диаметра их листовых пластинок 22-26 см прошло всего 2 недели. К концу вегетации диаметр надводных листьев достиг 45 см.

В конце октября, когда воду из водоема спустили, измерили диаметр корневищ, он достигал 2 см. Одну часть корневищ лотоса оставили зимовать в водоеме, снова заполнив водоем водой, другую – в емкости, оставив сверху слой воды 5-6 см, поместили в подвал.

Наши наблюдения за развитием лотоса каспийского в искусственном водоеме показали, что для прорастания семян более благоприятна вода со слабой минерализацией. Для выращивания семян в искусственном водоеме наиболее благоприятен грунт, состоящий из садовой земли и песка.

Интенсивность микоризации курильского чая *Potentilla fruticosa* L.

Данилова Елена Даниловна, Баширова Р.М.

(Башкирский Государственный Университет, Россия, Уфа, oktsun@yandex.ru)

Практическое использование везикулярно-арбускулярной микоризы (ВАМ) является альтернативой восстановления потери питательных элементов сельскохозяйственных угодий. В связи с этим нами был проведен эксперимент, целью которого является разработка агротехнических приемов, увеличивающих интенсивность микоризации сортов Курильского чая *Potentilla fruticosa* L.

В результате анализа литературы была выдвинута гипотеза, что на интенсивность микоризации корневой системы Курильского чая оказывает влияние применение следующих агротехнических приемов: дренаж из активированного древесного угля, мульчирование листовой ивы, совместное произрастание с клевером *Trifolium repens* L. Эксперимент проводился с разновидностями: Gold finger, Gold star, Gold teppich, Abbots wood и аборигенной формой на опытном участке с. Бакалы Бакалинского района Республики Башкортостан. Фрагменты корневых систем анализировали при увеличении в 400 раз на интенсивность микоризной инфекции, содержание арбускул и везикул.

При применении дренажа из активированного древесного угля средние показатели интенсивности микоризации корневых систем разновидностей *P. fruticosa* L. за три летних периода составили: М=41,1±21,0 %, содержание арбускул - А=4,83±11,3 %, везикул - В=4,83±11,3 %. Мульчирование листовой ивы дало следующий результат: М=38,8±31,0 %, А=2,6±3,85 %, В=0,708±0,725 %. Параметрами микоризации образцов курильского чая, произрастающего совместно с клевером *Trifolium repens*, являются: М=36,1±23,7%, А=5,35±8,33 %, В=0,74±0,865 %. Относительно контроля с показателями М=29,8±15,3%, А=5,85±7,79%, В=1,41±1,37% данные вариантов значимо не отличаются, кроме уменьшения плотности арбускул при мульчировании. Вероятно, что полученный результат является следствием незначительной степени инфицирования однолетних черенков с неразвитой корневой массой, а также с большим процентом гибели спор грибов ВАМ при развитии в относительно сухой весенне-летний период 2010 года.

Таким образом, наш эксперимент не подтвердил влияния дренажа из активированного древесного угля, мульчирования листовой ивы и совместного произрастания с клевером *Trifolium repens* на увеличение интенсивности микоризации и содержания арбускул и везикул.

Семенная продуктивность малолетних альпийских растений Северо-Западного Кавказа

Казанцева Елена Сергеевна

(Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Россия, Москва, biolenok@mail.ru)

Семенная продуктивность растений во многом определяет их способность к семенному возобновлению. Поддержание устойчивости и биоразнообразия высокогорных сообществ напрямую связано с успехом семенного размножения растений. Однако семенная продуктивность многих альпийских растений малоисследованна.

Наша работа проведена на территории Тебердинского государственного природного биосферного заповедника (Карачаево-Черкесская республика) на альпийском стационаре горы Малая Хатипара в летние месяцы 2009 и 2010 гг. Объектами исследования являлись восемь видов двудольных травянистых растений: *Androsace albana*, *Anthyllis vulneraria*,

Carum meifolium, *Draba hispida*, *Eritrichium caucasicum*, *Minuartia recurva*, *Sedum tenellum*, *Trifolium badium*. Для каждого исследуемого вида брали случайным образом по 100 генеративных побегов в 2009 году и по 50 побегов в 2010 году. У каждого побега путем прямого подсчета определяли число семян незадолго до созревания.

Самая высокая семенная продуктивность среди исследованных видов за два года была отмечена у *Sedum tenellum* 176 ± 25 (среднее и его ошибка, здесь и далее) семян на побег в 2009 году и 244 ± 52 в 2010 году. У остальных видов была отмечена невысокая семенная продуктивность (менее 100 семян на побег): *Androsace albana* 63 ± 8 (2009 г.) и 65 ± 15 (2010 г.); *Anthyllis vulneraria* 16 ± 1 и 18 ± 2 ; *Eritrichium caucasicum* 17 ± 1 и 23 ± 2 ; *Minuartia recurva* 32 ± 3 и 20 ± 5 . У этих видов семенная продуктивность была схожей в течение двух лет наблюдений. Для других видов семенная продуктивность сильно отличалась по годам. Так для *Carum meifolium* она составила в 2009 году 68 ± 2 семян на побег, а в 2010 году 111 ± 9 . Вероятно, это связано с методикой подсчета, так как в 2009 году семена считали лишь в основных зонтиках без учета боковых. Различия в семенной продуктивности по годам у *Draba hispida* 181 ± 33 (2009 г.) и 56 ± 13 (2010 г.), *Trifolium badium* 30 ± 6 и 76 ± 18 , возможно, связаны с метеорологическими условиями. Полученные в ходе работы данные дополняют представления о популяционной биологии изучаемых видов в альпийских фитоценозах северо-западного Кавказа, а семенная продуктивность *Anthyllus vulneraria*, *Draba hispida*, *Trifolium badium* была изучена впервые.

Особенности онтогенетической структуры древесной синузии пихто-еловых крупнопоротниковых лесов бассейна р. Б. Порожня (Печоро-Ильчский заповедник)

*Лазников Александрович¹, Ефименко А.С.¹,
Алейников А.А.²*

¹Брянская государственная инженерно-технологическая академия, Брянск, ²Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов РАН, Москва, aaacastor@gmail.com

Исследование демографической структуры древесной синузии необходимо для анализа сукцессионного состояния лесных сообществ и прогноза их дальнейшей динамики. Исследования проводились летом 2010 года в темновойных лесах бассейна реки Большая Порожня (приток реки Печора), в подзоне средней тайги. К наиболее малозученным лесам заповедника относятся пихто-ельники с кедром крупнопоротниковые, занимающие хорошо дренированные участки водоразделов и склонов. Цель работы – выявить особенности возрастной структуры древесной синузии этих лесных сообществ. Для этого была заложена постоянная пробная площадь размером 1 га, на которой выполнен сплошной пересчет всех деревьев, начиная с виргинильного состояния ($D_{1.3м} > 2$ см, $n=1063$). По общепринятым методикам определяли онтогенетическое состояние, высоту и диаметр на высоте 1,3 м.

Древесный ярус сообщества сложен несколькими видами: елью сибирской (*Picea obovata*), пихтой сибирской (*Abies sibirica*), кедром сибирским (*Pinus sibirica*), березой пушистой (*Betula pubescens*) и рябиной обыкновенной (*Sorbus aucuparia*). По сумме площадей поперечного сечения в древесном ярусе преобладает пихта ($15,50$ м²/га), ель ($10,30$ м²/га) и кедр ($6,20$ м²/га), а береза ($0,46$ м²/га) и рябина ($0,01$ м²/га) – в примеси. По числу стволов также доминируют пихта (507 шт.) и ель (352 шт.), а вот березы (37 шт.) значительно больше, чем кедра (16 шт.). Анализ возрастной структуры показал, что пихта и ель представлены в древостое всеми онтогенетическими состояниями (от v1 до g3), причем среди них преобладают молодые генеративные особи (26% и 29% соответственно). Кедр представлен только генеративными растениями, среди которых доминируют старые (73%). Единично встречаются виргинильные (78%) и зрелые генеративные растения березы, а также имматурные и молодые генеративные (60%) растения рябины. Таким образом, в крупнопоротниковых сообществах ценопопуляции пихты и ели характеризуются устойчивым потоком поколений, а ценопопуляции кедра, березы и рябины – нет.

Влияние новых биологически активных веществ на морфометрические показатели и элементы продуктивности проса

Семёнова Галина Николаевна, Андриянова Ю. М.

*(Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова,
Агрономический факультет, Россия, Саратов, GalinaMG@ua.ru)*

Глобальной проблемой современного сельскохозяйственного производства является обеспечение населения земного шара продуктами питания. В Саратовской области просо занимает одно из ведущих мест среди зерновых культур по площади посева. Одним из направлений повышения урожайности проса может быть применение биологически активных веществ (БАВ) для предпосевной обработки семян, вместе с тем, в Поволжском регионе таких исследований не проводили.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния новых биологически активных веществ на рост, развитие и элементы продуктивности проса. Объектом исследования служило просо посевное *Panicum miliaceum* L. сорта Саратовское 10. Для реализации поставленной цели было изучено влияние предпосевной обработки семян водной суспензией азотсодержащих производных имидазолена (А₁, А₃, В₁, В₇, С₁, С₅) с концентрацией 10⁻⁴% на особенности ростовых процессов проростков проса, энергию прорастания, всхожесть, морфометрические показатели проростков и элементы продуктивности проса. Контролем являлась дистиллированная вода, в качестве стандарта использовали иммуноцитопит и эпин. Оценку морфометрических показателей проростков проса проводили на 2, 4, 7 и 9-е сутки. Полевые опыты закладывали в 4-х кратной повторности на полях ООО «Слепцовское» Татищевского района Саратовской области на делянках с учетной площадью 50 м² в соответствии с методикой и техникой постановки полевых опытов на стационарных участках.

Установлено, что предпосевная обработка семян БАВ стимулирует морфометрические показатели проростков проса, повышает на 11,6-17,6% энергию прорастания, на 5,9-6,9% - лабораторную всхожесть, количество продуктивных стеблей возрастает на 12-24%, значение длины метелки - на 8-13%, число зерен в метелке увеличилось до 10,4%, масса зерна с метелки - на 44,3-66,5%, масса 1000 зерен - на 15,3-22,9%, урожайность - на 1,4-1,5 т/га.

Таким образом, проведенные лабораторные и полевые исследования позволили нам показать широкий спектр действия новых биологически активных веществ (азотсодержащих производных имидазолена) на культуру проса.

Типы фитоценозов с участием ольхи серой (*Alnus incana* L.) на территории государственного природного заповедника «Кологривский лес»

имени М.Г. Синицына» (Костромская область)

Ситников Константин Сергеевич

*(Костромской государственный университет им. Н.А. Некрасова, Россия, Кострома,
snipe301@rambler.ru)*

На территории заповедника «Кологривский лес» имени М. Г. Синицына» наряду с ненарушенными фитоценозами встречаются участки с разными типами и давностью нарушений растительного покрова. Благодаря этому есть возможность исследовать разнообразие фитоценозов с доминированием или участием *Alnus incana* L. Полевые работы с применением методов геоботанического описания и маршрутного наблюдения велись в июле 2010 г. в кв. №№ 15-18; 22-25 заповедника.

Благодаря высокой экологической пластичности *A. incana* встречается в разных типах фитоценозов. В частности, вид был обнаружен в поймах малых рек. Здесь *A. incana* образует естественные сообщества: сероольшаники травяные нитрофильные (сероольшаники крапивные с участием страусника и сероольшаники таволговые). По краям низинных болот с доминированием рогоза и осок встречаются отдельные куртины *A. incana* низкой жизненности. В обоих фитоценозах семенное возобновление ели подавлено, а *A. incana* размножается корневыми отпрысками.

Молодые особи ольхи серой обнаружены между колеями дорог. Здесь они не доживают до генеративного состояния из-за периодического охлестывания транспортом, но вид доминирует в растительном покрове благодаря обильному порослеобразованию.

Сероольшаники с участием березы и осины обнаружены на 30-40 летних вырубках. Чаще *A. incana* встречается в составе березняков черничников и березняков зеленомошных, сформировавшихся на вырубках еловых лесов (возраст насаждений 30-50 лет). В составе березово-ельника таволгового ольха серая занимает второй ярус. Возраст ели в нём - 60-90 лет. Единично куртины ольхи серой встречаются в ельнике кислично-широколистном (возраст ели свыше 100 лет). В условиях сильного затенения ценопопуляция ольхи угнетена и находится на низком уровне жизненности. В указанных сообществах наблюдаются различные этапы послерубочной сукцессии в гетерогенных экологических условиях. Представленные ценозы постепенно замещаются ельниками. В хвойных насаждениях с возрастом древостоя свыше 120 лет *A. incana* не встречена.

Таким образом, в ходе сукцессии, ольха серая вытесняется елью из большей части сообществ на территории заповедника. Фитоценозы с доминированием *A. incana* в пологе сохраняются в поймах малых рек и по краям низинных болот.

Работа выполнена при финансовой поддержке Федерального агентства по образованию (Темплан НИР КГУ им.Н.А.Некрасова на 2010-2011 гг.)

Эколого-биологическая характеристика кладохеты чистойей в республике Северная Осетия-Алания Тертерян Люсине Андрониковна

*(Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова, Россия,
Владикавказ, bootany@yandex.ru)*

Кладохета чистойейшая (*Cladochaeta candidissima* (Bieb.) DC.) – растение семейства сложноцветных, внесена в Красную книгу России, кавказский эндемик. В Республике Северная Осетия-Алания область наибольшего распространения находится в межгорных семинаридных котловинах, на высотах 750-900 м н.у.м. В пределах Северо-Осетинской наклонной равнины вид более редок и отмечен до высоты 500 м н.у.м. Характерное местообитание – песчано-галечные отложения в поймах горных рек имеющих ледниковое питание. Хорошо развивается и плодоносит при глубине грунтовых вод 0,2-0,5 м, реже встречается на глинистых почвах. Типичный псаммофит и гелиофит. Кладохета – многолетнее травянистое растение высотой 20-40 см, покрытое густым беловолочным опушением, корневая система стержневая с отходящими боковыми горизонтальными корнями 1-2 порядков.

Наибольшей плотности популяции кладохеты достигают в межгорных котловинах – 30-80 и более растений на 1 м². Молодые генеративные растения представлены одним цветоносным побегом высотой 5-17 см. С возрастом количество генеративных побегов увеличивается и может достигать 439 экз. Корзинки кладохеты собраны в щиток, в котором находится от 1-80 корзинок, средний показатель - 26 экз. Цветет в июне-сентябре. Потенциальная семенная продуктивность на 1 корзинку – 26 семян, лимит - 15-29. Фактическая семенная продуктивность – 22 семянки, лимит – 12-25. Вес 1000 шт. семян колеблется от 0,3788 до 0,3864 г. Семена снабжены хохолком и разносятся ветром. В лабораторных условиях семена прорастают сразу, без фазы покоя. В зависимости от популяции и сроков сбора семян всхожесть достигает 70-98%.

По данным литературы, размножение семенное, а нами установлено, что вид хорошо размножается и вегетативным способом. Боковые горизонтальные корни, залегающие на глубине 10-40 см. и протяженностью до 100 см. несут почки, прорастающие на поверхности грунта новыми растениями. Выявлены клоны включающие до 15 растений. Выпас скота ущерба виду не приносит, он избирательно поедается только в засушливые годы. Лимитирующим фактором являются строительные работы в поймах рек и добыча песчано-гравийной смеси для строительных нужд. Наибольший вред виду наносят максимальные паводки, достигающие необычных величин раз в 10-15 лет и смывающие большинство популяций.

Влияние условий выращивания на продуктивность гибридов подсолнечника Хаитыров Ибрагим Баширович, Бандюк С.Н.

*(Кубанский государственный аграрный университет, Россия, Краснодар,
abraam_kub.sau@mail.ru)*

Краснодарский край, являясь одним из крупнейших производителей подсолнечника среди регионов России, характеризуется резко выраженной экологической зональностью, что затрудняет широкое внедрение в производство новых гибридов этой культуры без предварительного исследования.

Изучение урожайности и масличности семян трех гибридов подсолнечника культурного (Юпитер, Помар, С-207) проводилось в нескольких почвенно-климатических зонах, две из которых располагались на территории Краснодарского края и одна – республики Адыгея при различной (заданной) густоте стояния растений (30, 50 и 70 тыс. раст./га). Исследования проводились в течение трех лет, характеризовавшихся весьма контрастными метеоусловиями, что позволило включить в качестве дополнительного экофактора различия лет.

Анализ результатов исследований в модели четырехфакторного («гибрид×густота×зона×год») дисперсионного комплекса свидетельствовал о подавляющей экологической обусловленности величин урожайности изучаемых гибридов подсолнечника. Так, наибольший вклад в дисперсию урожайности вносили факторы «зона» и «густота» (42 и 21 %, соответственно), тогда как доля межгибридных различий составляла всего лишь 7,7 %. При этом фактор «год» вносил наименьший вклад (5%) в общую дисперсию. На парные эффекты приходилась незначительная доля дисперсии за исключением взаимодействий «густота×год» и «зона×год» (10 и 4 %, соответственно). Напротив, значительную долю (52 %) дисперсии масличности обуславливали межгибридные различия и различия в плотности агроценоза (24 %) при недостоверном влиянии зонального фактора. Наименьшей вариабельностью характеризовалось влияние фактора «год» и эффекты парных взаимодействий.

Таким образом, серия дисперсионных анализов этого эксперимента показала, что подавляющую долю дисперсии урожайности исследованных гибридов обуславливают экологические факторы (зона культивирования и плотность агроценоза). При этом масличность семян обуславливалась главным образом генетической природой гибридов.

Гемеробияльность флористических районов Якутии Черосов Борис Михайлович

(Северо-восточный федеральный университет, Россия, Якутск, cherosov_boris@mail.ru)

Одним из самых интересных направлений по изучению антропогенной нагрузки на растительность и флору является изучение гемеробии растений (синоним – степень нарушенности, степень окультуренности). Выделяются а (агемеробы), о (олигогемеробы), м (мезогемеробы), б (β-эугемеробы), с (α-эугемеробы), р (полигемеробы), т (метагемеробы) виды. Исследований по гемеробии растений Якутии, гемеробияльности растительности на базе изучения ценофлор синтаксонов, а также и в России, очень мало.

Используя базу данных по гемеробии видов Якутии (1870 из 1984 видов региона), организованной в программе IBIS (автор А.А. Зверев, Томский госуниверситет), был впервые проведен анализ гемеробии отдельных флористических районов Якутии (Верхнеленского, Алданского, Центральнаякутского, Яно-Индибирского, Колымского, Оленекского, Арктического).

В северных районах (4 района – Арктический, Оленекский, Яно-Индибирский, Колымский) в структуре типов гемеробии преобладают такие типы, как агемеробные, в минимуме находятся такие типы, как поли- и метагемеробные. Это одно из самых характерных признаков, отличающих северные районы от южных (Верхнеленский, Алданский, Центральнаякутский). Доля агемеробных растений во флористических районах Якутии с юга на севера закономерно возрастает с 16,8% на юге (Верхнеленский) до 49,1% на севере (Арктический).

Нами проведен корреляционный анализ сходства флористических районов по показателям гемеробии, который позволил выявить различия между районами и в определенной мере подтвердил и уточнил вышеприведенные различия между районами.

Также нами составлен своеобразный рейтинг флористических районов по степени гемеробии: Наиболее нарушенные районы – Центральнаякутский и Верхнеленский, которые имеют показатели примерно одинаковые. Далее идет Алданский, Яно-Индибирский, Колымский, Оленекский. Наименее нарушенный район – Арктический.

Эколого-биологические особенности ценопопуляций тюльпана Геснера (тюльпана Шренка) на каштановых почвах

Чоникова Кермен Юрьевна

*(ГОУ ВПО «Калмыцкий государственный университет», Россия, Элиста,
Kema1990@pochta.ru)*

Тюльпан Шренка – редкий и исчезающий вид флоры степей Евразии. Для сохранения этого вида необходимо сохранение его конкретных ценопопуляций, что невозможно без их детального изучения с последующим мониторингом. Цель работы – изучение состояния популяции тюльпана Шренка на каштановых почвах в пределах Республики Калмыкия. Исследования проведены в течение 2008-2009 гг. В качестве объектов исследования выбраны две ценопопуляции тюльпана Шренка: приютненская ценопопуляция в злаково-разнотравном сообществе к подтипу каштановых почв, троицкая в злаково-лерхопольном сообществе – к подтипу светло-каштановых почв. При проведении исследований использована общепринятая методика геоботанических исследований.

При определении сходства двух фитоценозов рассчитан коэффициент Жаккара, он равен 0,33. Общие виды в сравниваемых популяциях: овсяница валлисская, ковыль Лессинга, мятлик луковичный, пижма тысячелистниковая, лютик иллирийский, прангос противозубный, полынь австрийская, бурачок пустынный, тюльпан Биберштейна, т. Шренка. В возрастном спектре обеих ценопопуляций в 2008 г. преобладали ювенильные и генеративные особи, в 2009 г. увеличилась доля виргинильных особей. В соответствии с классификацией Т.А. Работнова (1950), обе популяции относятся к нормальному типу.

В качестве морфологического признака, характеризующего жизненность особей, мы исследовали высоту генеративных особей. Средняя высота генеративных побегов тюльпана Шренка в 2008г. на 3,3 см выше, чем в 2009г. в приютненской и на 3,4см в троицкой ценопопуляции. По данным метеостанции Элиста, условия увлажнения 2008 г. оказались более благоприятными для развития растений по сравнению с 2009 г. Полученные нами данные говорят о том, что жизненность особей тюльпана определяется оптимальным сочетанием влажности и тепла, которое наблюдалось в 2008г. Почвенный фактор влияет на развитие тюльпана Шренка в меньшей степени.

Фитоценотический метод контроля уровня засоренности в агроландшафтах южной лесостепной зоны Челябинской области

Щетинкина Татьяна Васильевна

*(Южно-Уральский государственный университет, Россия, Челябинск,
tanyushka-shh@yandex.ru)*

Одним из основных условий формирования культурного ландшафта является достижение максимальной производительности возобновимых природных ресурсов. Большое влияние на биопродуктивность агроландшафтов оказывает засоренность сельскохозяйственных культур. Учитывая, что применение гербицидов дорого и экологически небезопасно, выгодно шире использовать агрофитоценотический метод контроля уровня засоренности, суть которого состоит в насыщении севооборотов высококонкурентными культурами, способными угнетать сорные растения, а также уменьшать банк семян сорняков в почве.

Цель исследований – установить влияние различных предшествующих культур на потенциальную (почвенную) и актуальную засоренность агроценозов. Исследования проводились в 2008-2010 гг. на стационарном опытном поле СПК «Подовинное» в

Октябрьском районе Челябинской области с применением экспериментальных (полевых), лабораторных и аналитических методов. В качестве конкурентоспособных культур были использованы рапс, горохоовсяная смесь, донник, эспарцет, многолетняя озимая рожь; в качестве контрольного варианта – паровое поле.

В результате исследований: определена возможность выращивания адаптивных конкурентоспособных сельскохозяйственных культур в севооборотах; изучено влияние различных предшествующих культур на накопление банка семян сорных растений, их видовой состав и жизнеспособность; установлена корреляционная зависимость между накоплением семян в почве и порогом вредоносности сорных растений в посевах зерновых культур; разработаны меры по снижению засоренности посевов и повышению биопродуктивности агроценозов.

Результаты исследований подтвердили эффективность использования фитоценотического метода контроля уровня засоренности в агроландшафтах южной лесостепной зоны Челябинской области. Наиболее конкурентоспособными в данных условиях являются эспарцет, донник и многолетняя озимая рожь, которые, конкурируя за воду и питательные вещества, подавляют развитие многих сорных растений и уменьшают их семенную продуктивность.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Подсекция «Антропология»	3
Подсекция «Биология развития»	8
Подсекция «Биофизика, биоинженерия и нанобиотехнологии»	20
Подсекция «Биохимия»	47
Подсекция «Ботаника. Высшие растения»	58
Подсекция «Вирусология»	67
Подсекция «Генетика»	72
Подсекция «Гидробиология и общая экология»	101
Подсекция «Зоология беспозвоночных»	112
Подсекция «Зоология позвоночных»	132
Подсекция «Микология и альгология»	148
Подсекция «Микробиология»	161
Подсекция «Молекулярная биология»	192
Подсекция «Нейрофизиология и физиология ВНД»	201
Подсекция «Физиология растений»	222
Подсекция «Физиология человека и животных»	237
Подсекция «Цитология»	278
Подсекция «Экология и охрана окружающей среды»	288
Подсекция «Экология растений»	317